

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Untersuchungen über den Leukozytengehalt in Milch von gesunden Kühen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Neuschulz
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1963
Journal-Nr.: 428

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene der
Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

"UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN LEUKOZYTENGEGHALT
IN MILCH VON GESUNDEN KÜHEN"

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
J o a c h i m N e u s c h u l z
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1963
Journal Nr. 428

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin.

Dekan: Prof. Dr. H.-J. Heidrich

Referent: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h. c. Lerche



Tag der mündlichen Prüfung: 18.XII.1963

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
A. Einleitung	1
B. Schrifttum	
I. Zellen, die aus den Milchbildungsstätten und den ableitenden Milchwegen stammen	2
II. Zellen, die aus dem Blut in die Milch übergehen	3
III. Zerfallsforemen	5
IV. Methoden der Zelldarstellung	5
V. Zellzahlen	7
VI. Grenzwerte	8
VII. Differentialzellbilder	8
C. Eigene Untersuchungen	
I. Material und Methodik	
1) Material	10
2) Methodik	11
3) Berechnung der Zellzahlen	13
II. Ergebnisse	
1. Vorversuche	15
2. Hauptversuche	
a) Zellgehalt	19
b) Gesamtdurchschnittswerte	43
c) Bakteriologische Untersuchung	43
d) pH-Wert	44
e) Thybromol-Katalase-Probe	44
D. Besprechung der Ergebnisse	
I. Vergleiche der Ergebnisse mit der Literatur	45
II. Veränderungen des Zellgehaltes während der Untersuchungen	48
E. Zusammenfassung	51
F. Literaturverzeichnis	52

A. EINLEITUNG

Der Zellgehalt der Milch hat seit jeher in der Beurteilung der Milch als Lebensmittel in hygienischer Sicht eine große Bedeutung gehabt. Auch in der Mastitisdiagnose und damit der Bekämpfung der Mastitiden kann auf die Zellzählung und die Zelldifferenzierung nicht verzichtet werden. Denn gerade die Eutererkrankungen sind, nachdem Tuberkulose und Brucellose erfolgreich unter Kontrolle gebracht wurden, immer noch eines der größten Probleme der Milchviehhaltung.

Die Verwertung des Zellgehalts als diagnostisches Hilfsmittel ist aber nur dann sinnvoll, wenn eine verlässliche Norm als Beurteilungsgrundlage existiert. Da in neuerer Zeit mehrfach die Meinung vertreten worden ist, normale Milch enthalte keine polymorphkernigen Leukozyten (Zlotnik 1947, Wahby 1954, Moursy und Obiger 1960), ist es wichtig zu klären, welche Rolle die Leukozyten in der Milch spielen, damit ihre Bedeutung richtig eingeschätzt werden kann.

Mit den vorliegenden Untersuchungen soll daher zur Frage des Vorkommens von Leukozyten in der Milch erneut Stellung genommen werden.

B. S C H R I F T T U M

Die in der Milch vorkommenden Zellen haben verschiedenen Ursprung. Man unterscheidet zwei Gruppen (Schönberg 1956).

- I. Zellen, die aus den Milchbildungsstätten und den ableitenden Milchwegen stammen und
- II. Zellen, die aus dem Blute in die Milch übergehen.

Die einzelnen Zellarten sind bei Böhme (1960), du Toit (1917), Klimmer-Schönberg (1951), Schönherr (1956), Wahby (1954) und Zlotnik (1947) genau beschrieben und in Abbildungen gezeigt.

I. Zellen, die aus den Milchbildungsstätten und den ableitenden Milchwegen stammen.

Bei den Zellen dieser ersten Gruppe handelt es sich ausschließlich um Epithelzellen, die aus Alveolen, kleineren und größeren Milchgängen, der Zisterne und dem Strichkanal stammen und nach ihrer Gestalt meist gut zu differenzieren sind.

Das kubische Epithel der Alveolen und kleinen Ausführungsgänge fällt durch seine Gestalt besonders auf. Die Zellen sind häufig mit Fett beladen und werden dann als Schaumzellen (mit vielen kleinen Fetttropfchen im Protoplasma), bzw. als Siegelringzellen bezeichnet, wenn der Kern und das Plasma, von einem größeren Fetttropfen verdrängt, als Kappe auf diesem sitzen (Schönberg 1956, Schönherr 1956). Nach Diernhofer (1950) sind sie ohne Fetttropfen den Lymphozyten sehr ähnlich.

Die Zellen des mehrschichtigen Zylinderepithels der Zisterne und größeren Ausführungsgänge sind sehr vielgestaltig. Meist sind sie vieleckig, zum Teil mit länger ausgezogener Basis.

Sie kommen nur in geringer Zahl in normaler Milch vor (Wilde 1938).

Die Plattenepithelien des Strichkanals sind, meist sehr schwach gefärbt, relativ große, kernlose Zellen. Sie lassen sich von denen der äußeren Zitzenhaut durch ihre Färbbarkeit unterscheiden (Diernhofer 1950). Die ersteren färben sich nach Giemsa blau-violett, die letzteren rot. Beide Zellarten kommen nur in ganz geringer Menge in der Milch vor.

II. Zellen, die aus dem Blut in die Milch übergehen.

Die in der Milch vorkommenden Blutzellen werden am besten wie die Blutzellen eingeteilt in:

1. Leukozyten
 - a. Granulozyten (neutrophile, eosinophile und basophile)
 - b. Lymphozyten
 - c. Monozyten
2. Erythrozyten

1.a. Granulozyten

Bei den Granulozyten ("Leukozyten im engeren Sinne" Christiansen 1929) werden je nach der Farbaffinität ihrer Granulationen folgende Gruppen unterschieden:

- a.a. Die neutrophilen Granulozyten sind durchschnittlich 12 μ große, meist runde oder ovale Zellen, mit je nach ihrem Alter verschieden stark segmentiertem Kern. Die Granulation im schwach gefärbten Plasma ist im Milchausstrich meist nicht deutlich zu erkennen, während sich der Kern nach Giemsa sehr intensiv färbt. Er besteht aus zwei bis fünf Segmenten, die durch dünne Fäden verbunden sind.
- a.b. Die eosinophilen Granulozyten gleichen in der Größe etwa den Neutrophilen. Die groben, leuchtenden eosinophilen Granula sind deutlich sichtbar. Der Kern ist allgemein von etwas plumperer Gestalt als bei

den Neutrophilen. Von verschiedenen Untersuchern (Bachmann 1932, Prasuhn 1933) wird berichtet, daß diese Zellen sehr brüchig sind.

a.c. Die basophilen Granulozyten sind schon im Blut in sehr geringer Menge vorhanden. In der Milch sollen sie nur ganz vereinzelt vorkommen, so daß ihnen keine Beachtung geschenkt worden ist.

1.b. Lymphozyten

Die 4-6-8 μ großen Lymphozyten sind runde Zellen mit einem sehr stark gefärbten Kern. Das Plasma ist bei den kleinen Lymphozyten teilweise so gering, daß es nur an Eindellungen des Kerns stärker in Erscheinung tritt. Die größeren Formen sind durch einen breiteren Protoplasmasaum gekennzeichnet. Der Kern kann glatt und rund sein oder auch eine mehr oder weniger starke Einziehung am Rand aufweisen. Selten kommen auch Lymphozyten mit einem zweiteiligen Kern vor.

1.c. Monozyten

Die Monozyten haben einen Durchmesser von etwa 12 μ . Der Kern ist lockerer im Gefüge als bei den Granulozyten und Lymphozyten und meist von rundlicher oder nierenförmiger Gestalt. Auch tiefere Einschnürungen des Kerns werden beobachtet. Das Plasma erscheint gewöhnlich homogen grau-blau. Die Umrisse der Zellen sind oft undeutlich.

Außer diesen drei Leukozytenarten sind nach Prasuhn (1933) hin und wieder Plasma- und Endothelzellen, von ihm als "seltene Leukozytenarten" bezeichnet, in der Milch anzutreffen. Nach Siegert (1931) sollen sie nicht nur bei Blutungen, sondern auch unter normalen Verhältnissen in der Milch vorkommen. Er faßt sie als abgewanderte Zellen des retikuloendothelialen Systems auf, die den Monozyten sehr nahe stehen und zur Phagozytose befähigt sind.

2. Erythrozyten

Erythrozyten sind in normaler Milch höchst selten zu finden. Lediglich im Kolostral- bzw. Nachkolostralstadium treten sie häufiger auf. Sie sind meist lädiert

und erscheinen als Stechapfelform oder als "Blasen" und "Näpfchen".

III. Zerfallsformen

Als Zerfallsformen sind noch die pseudopolymorphkernigen Zellen (Wahby 1954, Wahby und Nasr 1957 und Zlotnik 1947) zu nennen. Sie stammen nicht aus dem Blut, sondern werden als 6-20 μ große degenerierte Epithelien beschrieben, die in verschiedenen Erscheinungsformen vorliegen und in ihrer Gestalt zwischen einkernigen Epithelien bis zu leukozytenähnlich segmentierten Zellen variieren können. Die erste Stufe des Zerfalls beginnt mit dem Auftreten von fetthaltigen Vakuolen im Inneren des Kerns, der dann durch den intra- und extranuklearen Druck des Fettes zu den verschiedensten Formen modifiziert wird. Die Verwechslungsmöglichkeit mit echten polymorphkernigen (besser segmentkernigen) Leukozyten ist in frühen Stadien des Kernzerfalls der Pseudopolymorphkernigen groß (Zlotnik 1947).

Nissensche Kugeln, Albuminophoren und pathologische Zellformen, wie Epitheloidzellen und Langhans'sche Riesenzellen sollen der Vollständigkeit halber erwähnt werden. Eine eingehende Besprechung erübrigt sich, da sie für die vorliegende Fragestellung nicht wichtig sind.

IV. Methoden der Zelldarstellung

Bei den zur Darstellung und Zählung der Milchzellen gebrauchten Verfahren ist zwischen den direkten und den indirekten zu unterscheiden. Die von Breed (1917) und Skar (1912) angewandten Ausstrich- und Zählmethoden sind im Prinzip ähnlich. Sie unterscheiden sich nur in der Menge der ausgestrichenen Milch und der Größe des Ausstriches.

Von den angelsächsischen Untersuchern wird meist die Methode nach Breed benutzt, wobei 0,01 ml Milch auf 1 cm²

ausgestrichen und mit derselben Lösung gleichzeitig gefärbt und fixiert wird. Eine bestimmte Anzahl von Gesichtsfeldern wird ausgezählt und der durchschnittliche Zellgehalt eines Gesichtsfeldes auf 1 ml Milch umgerechnet. Während Breed eine Pipette zum Abmessen der Milch benutzt, haben andere Untersucher (Bachmann 1932, Blackburn et al. 1955) das erforderliche Milchvolumen mit einer geeichten Platinöse aufgetragen. Vergleichende Untersuchungen von Leidl, Schalm und Lüps (1961) haben ergeben, daß auch bei diesem Verfahren der Zellzählung eine ausreichende Genauigkeit gewährleistet ist.

Die indirekten Methoden beruhen auf der Anreicherung der zelligen Elemente durch Zentrifugieren. Um möglichst alle Zellen im Sediment anzureichern und zu verhindern, daß sie mit aufräumen, wird die Milch erhitzt. (Lerche, Nieder und Zinn 1937, Nieder 1935, Imping 1937).

Auch im Sediment läßt sich eine Gesamtzellzahlbestimmung mittels der Zählkammer, ähnlich der Blutzellenzählung, durchführen (Doane und Buckley zit. n. Durchholz 1958): Das Sediment von 10 ml Milch wird mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert und davon 1 Tropfen in die Zählkammer gebracht.

Da das Fett häufig stört, hat Beil (1955) die Milch mit einem Gemisch aus Isobutylalkohol, Äthylalkohol und Natronlauge entfettet. Nach dem Zentrifugieren wird das Sediment mit 1 ml Restmilch homogenisiert und das Konzentrat ähnlich der Breed'schen Methode (0,04 ml auf 4 cm²) ausgestrichen, gefärbt und ausgezählt.

Die Ausstriche werden heute meist nach Giemsa gefärbt. Zum Teil werden auch die Methylenblau-, Toluidinblau- oder auch die Pappenheimfärbung angewandt. Letztere ist von Christiansen (1929) etwas modifiziert worden.

V. Zellzahlen

Die Zellzahl ist schon unter physiologischen Verhältnissen von verschiedenen Faktoren abhängig. So übt das Laktationsstadium einen wesentlichen Einfluß aus, denn zu Anfang und auch am Ende der Laktation ist der Zellgehalt etwas erhöht (Obiger 1960, Schulz 1909).

Über den Zellgehalt der Kolostralzeit gibt Frerking (1961) von 3 kühlen Leukozytenwerte von 2 430 000 bis 970 000 am ersten Tage und 110 000 bis 30 000 am fünften Tage nach dem Kalben an. Beim Trockenstellen hat Seiff (1932) eine stetige Steigerung der Zellzahl bis 15 Mill. Zellen im ml beobachtet. In einem Fall, als die Kuh gewaltsam trockengestellt wurde, stieg der Gesamtzellgehalt auf 58 Mill. im ml, fiel aber, nachdem die Kuh endgültig trockenstand auf ca. 15 Mill. ab.

Ferner ist für die Beurteilung des Zellgehaltes auch wichtig zu wissen, welcher Gemelkfraktion die Milchprobe entstammt. So nimmt nach übereinstimmender Ansicht der Zellgehalt vom Anfangsgemelk zum Endgemelk kontinuierlich zu (Breed 1917, Keßler 1950, Kießig 1932, Wolf 1932). Seiff (1932) beobachtete einen Zellanstieg im Endgemelk auf das zwei- bis sechsfache, Russel und Hoffmann (1908) auf das dreifache des Anfangsgemelkes.

Schließlich können auch schlechtes Ausmelken (Obiger 1960) und plötzlicher Futterwechsel, wie z.B. Weideauftrieb (Teute und Welz 1961) ebenfalls eine Erhöhung des Zellgehaltes bedingen.

Hillmann (1956) sieht die physiologischen Reizzustände des Euters als maßgebliche Ursache für die Schwankungen des Zellgehaltes an. Auch die individuelle Veranlagung und der allgemeine Gesundheitszustand der Tiere haben auf das Zellbild einen Einfluß.

Einen Zusammenhang zwischen Keim- und Zellgehalt konnte Steck (1923) nachweisen. Bei der Besiedelung des Euters mit Staphylokokken war die Zellzahl der Milch von der Keimzahl direkt abhängig. Streptokokken dagegen bedingten häufig ein "Nachhinken" der Reaktion um 24 Stunden. Zellgehalt und Keimzahl waren dabei nicht proportional.

Das Verhältnis zwischen Leukozyten und den anderen Zellarten ist kleiner, wenn die Zellzahl über 100 000 ansteigt und gleichzeitig Mastitiserreger vorhanden sind (Blackburn, Laing und Malcolm 1955). Nach ihrer Meinung besteht keine Mastitis, wenn der Gesamtzellgehalt unter 100 000 liegt und der Leukozytenanteil 45% nicht übersteigt.

VI. Grenzwerte

Als Grenzwerte für die Zellzahlen in normaler gegenüber pathologisch veränderter Milch haben sich im Laufe der Jahre erfahrungsgemäße Normen herausgebildet, so daß sich heute die Ergebnisse einzelner Untersucher nicht sehr stark unterscheiden. Hauke (1961) gibt dazu eine tabellarische Übersicht, die eine Schwankungsbreite zwischen 100 000 und 250 000 Zellen je ml Milch erkennen läßt.

Verhältnismäßig niedrig liegen die Angaben in den beiden folgenden Publikationen: Halversen, Cherington und Hansen (1934) geben für normale Milch einen Zellgehalt von unter 50 000 an. Sie sind der Ansicht, daß eine Zellzahl von mehr als 100 000 Zellen im ml schon auf eine Infektion hindeutet. Auch Bachmann (1932) hält einen durchschnittlichen Zellgehalt von höchstens 65 000 im ml für normal.

VII. Differentialzellbilder

Neben der Betrachtung des Gesamtzellgehaltes sollen in der nachfolgenden Aufstellung die Differentialzellbilder verschiedener Autoren einander gegenüber gestellt werden, wobei teilweise erhebliche Divergenzen zu beobachten sind:

	Bourgeois n.Bartsch	Wirth	Bachmann	Eckl	Zlotnik	Wahby
	1927	1929	1932	1937	1947	1957
Epithelien			7,9%		55-85%	60%
Pseudopolymorphkernige					6-40%	3%
Mikropseudozellen					1-20%	8%
große squamöse Zellen					1- 5%	2%
Neutrophile	48%	44%	51,3%	57,72%	0- 3%	
Eosinophile	2%	3%	0,4%			
Lymphozyten	27%	36%	34,3%	29,66%	1-18%	27%
Monozyten bzw. Mononukleäre	23%	17%	6,0%	12,62%		

Dieser Übersicht ist zu entnehmen, daß sich die Ansichten in der Beurteilung des Zellbildes gewandelt haben. Während nach Bourgeois, Wirth, Eckl und auch Schönberg die neutrophilen Leukozyten den Hauptanteil der in der Milch vorkommenden Zellen ausmachen, vertreten Zlotnik, Wahby und in neuester Zeit auch Obiger (1961) die Meinung, daß echte segmentkernige Leukozyten in normaler Milch nicht vorhanden sind. Als einzige Blutzellenart kommen nach ihrer Meinung nur Lymphozyten vor. Die von anderen Autoren als Leukozyten angesprochenen Gebilde werden von den zuletzt genannten Verfassern als "Pseudopolymorphkernige" bezeichnet, die als Epithel-Zerfallsformen angesehen werden. Die überwiegende Mehrheit des Gesamtzellgehaltes stellen nach dieser Ansicht also die Epithelzellen dar.

Aus den zuletzt zitierten Angaben muß gefolgert werden, daß in jedem Fall der Nachweis von polymorphkernigen Leukozyten in einer Milch als Hinweis auf das Vorliegen einer Sekretionsstörung zu werten ist.

Wegen der außerordentlichen Bedeutung der Leukozyten in cytodagnostischer Hinsicht wurden daher zur Klärung der obigen einander widersprechenden Angaben die folgenden Untersuchungen durchgeführt.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methodik

1) Material

Für die Voruntersuchungen wurden Viertelgemelke von Schlachtrindern entnommen. Zellzählung und -differenzierung sowie die Bestimmung des Keimgehaltes der Milch wurden nach den unten beschriebenen Methoden durchgeführt.

Außerdem wurden nach dem Schlachten Geschabsel aus der Zitsenzisterne und dem Euterparenchym auf einem Objektträger nach Art des Blutausstriches ausgestrichen. Für den Hauptversuch standen mir 8 Kühe aus dem Rassenstall des Institutes für Tierzüchtung der Technischen Universität Berlin zur Verfügung. Der Bestand ist brucellose- und tuberkulosefrei. Die Tiere waren gesund und zeigten auch keine klinisch feststellbaren Veränderungen der Euter. Die Stallverhältnisse waren sehr gut, die Tiere befanden sich in gutem bis sehr gutem Ernährungszustand. Gemolken wurde mit einer Westfalia-Melkmaschine (Vakuum 600 mm Hg, 45 Pulse/Min.).

Es wurden Einzelgemelke von Kühen entnommen, deren Kalbedaten möglichst dicht beieinander lagen.

Von der Untersuchung von Viertelgemelken wurde abgesehen, da sich bei der Voruntersuchung gezeigt hatte, daß wohl die Zellgehalte der einzelnen Viertel differieren, aber von jedem Viertel Leukozyten ausgeschieden wurden. Außerdem sollten alle Tiere gleichzeitig untersucht werden.

2) Methodik

Die Proben wurden beim Morgenmelken entnommen. Um den maximalen Zellgehalt der einzelnen Tiere zu erfassen, wurden Einzelendgemelke verwandt. Zur Gewinnung wurden nach dem Abnehmen der Melkbecher aus jedem Strich jeweils ca. 20 ml in eine fast waagerecht gehaltene sterile Probeflasche gemolken. Die Zitzenkuppe wurde nach Möglichkeit nicht berührt.

Je Milchprobe wurden 2 direkte und 2 Sedimentausstriche angefertigt, wobei die Sedimentausstriche zur Kontrolle auf Phagozytose und Degenerationserscheinungen der Zellen dienten.

Der direkte Milchausstrich und der Sedimentausstrich wurden nebeneinander auf demselben Objektträger angefertigt. Für den direkten Milchausstrich wurden 0,01 ml Milch mit einer Öse auf den Objektträger verbracht und mit einer abgebogenen Nadel auf einem markierten Feld von genau 1 cm² gleichmäßig ausgestrichen. Die Markierung erfolgte durch Auflegen des Objektträgers auf eine Schablone.

Herstellen eines Sedimentes: 10 ml Milch jeder Kuh wurden 20 Min. bei 3 000 U.p.m. zentrifugiert. Rahm und Magermilch wurden abgegossen und eine Öse Sediment auf 1 cm², in der Mitte beginnend, spiralgig ausgestrichen (ähnlich der Kieler Methode).

Die Objektträger wurden waagerecht zum Trocknen ausgelegt und anschließend unter Vermeidung von Staub- und Lichtzutritt noch 12 - 24 Stunden nachgetrocknet.

Danach wurde ein Objektträger 10 Min. in Methanol fixiert und 15 Min. nach Giemsa gefärbt (6 ml Stammlösung auf 100 ml destilliertes Wasser), mit destilliertem Wasser abgespült und hoch stehend an der Luft getrocknet.

Der andere Objektträger wurde zur Darstellung der Leukozytengranulation mittels Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll gefärbt (Romeis 1948, Mielke 1925).

Die Ausstriche wurden 5 Min. in 10%igem Formalinalkohol (10 ml Formaldehyd 40%ig und 90 ml Äthanol 96%ig) fixiert. Nach dem 5 Min. dauernden Wässern in destilliertem Wasser wurden die Objektträger 5 Min. lang mit dem Peroxydase-reagenz überschichtet, gut abgespült und 15 Min. mit verdünnter Giemsalösung gefärbt.

Das Peroxydase-reagenz besteht aus 0,1 g Bénzidin "Merck" in 20 ml 40%igem Äthanol gelöst, dem 0,04 ml frischer 3%iger Wasserstoffsuperoxydlösung zugesetzt sind.

Eine positive Peroxydasereaktion (gelbgrüne bis braune Körnelung im Protoplasma) geben alle neutrophilen und eosinophilen Leukozyten, sowie ein kleiner Teil der basophilen und einige Monozyten. Negativ sind teilweise die Monozyten, der größte Teil der Basophilen, alle Lymphozyten, Plasmazellen, Megakariozyten und Erythrozyten (Mielke 1925), vor allem aber auch die Epithelien.

Die von Romeis und Mielke angegebene Fixierungszeit von 30 Sekunden bzw. 2 Min. mußte auf 5 Min. erhöht werden, weil sich sonst die Ausstriche ablösten. Die Granulation trat nicht immer deutlich hervor, sondern das Plasma zeigte öfter eine diffuse gelbbraune Färbung. Nur die eosinophilen Leukozyten waren deutlich gelbbraun granuliert. Die Färbung ergibt auch in dickeren Ausstrichen noch eine gute Differenzierung.

3) Berechnung der Zellzahlen

Die Bestimmung der Zellzahlen erfolgte auf den Direkt-
ausstrichen in nachstehender Weise:

Die quadratischen Ausstriche wurden zweimal von Rand zu
Rand ausgezählt und zwar einmal waagrecht und einmal
senkrecht.

Der Gesichtsfelddurchmesser der Ölimmersion 100 : 1
betrug beim benutzten Mikroskop 0,15 mm. Da die Seiten
des Ausstriches 10 mm lang waren, wurde beim kontinuier-
lichen Durchzählen von Rand zu Rand eine Fläche von
 $0,15 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} = 1,5 \text{ mm}^2$ erfaßt. So ergab sich bei zwei-
maligem Auszählen eine Fläche von 3 mm^2 . Der ganze Aus-
strich hatte eine Größe von 100 mm^2 . Es wurden also 3%
der gesamten Fläche ausgezählt. Da 0,01 ml auf 100 mm^2
ausgestrichen wurden, ergab sich für die Umrechnung auf
1 ml der Faktor $\frac{100}{3} \cdot \frac{100}{100} = 3333,3$.

Mit diesem Faktor mußte die durch Auszählen ermittelte
Zellzahl multipliziert werden.

Berechnung der Fehlergrenze

Zur Berechnung des Fehlers wurde ein Ausstrich mit
mittlerem Zellgehalt ganz ausgezählt.

Der mittlere Fehler des Mittelwertes wurde nach der
Formel

$$\epsilon = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n(n - 1)}}$$

berechnet.

M = arithmetisches Mittel

x = gefundene Werte je Streifen

n = Anzahl der ausgezählten Streifen

Der Mittelwert wurde nach der Formel

$$M = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

mit 34,7 Zellen je Streifen berechnet.

Die Summe der Quadrate der Abweichung vom arithmetischen Mittel betrug im vorliegenden Fall 16 319,02.

In obenstehende Formel eingesetzt ergab sich dann:

$$\epsilon = \pm \sqrt{\frac{16\ 319,02}{67(67 - 1)}} = \pm 1,92$$

Dieser mittlere Fehler des Mittelwertes wurde mittels der Formel

$$F = \pm \frac{\epsilon \cdot 100}{M} \quad \text{in Prozent umgerechnet.}$$

$$F = \pm \frac{1,92 \cdot 100}{34,7} = \pm 5,53\%$$

Es wurden nun zur Kontrolle dieses Ergebnisses noch einmal 10 Streifen desselben Ausstriches in verschiedenen Abständen ausgezählt und ebenfalls die Fehlergrenze berechnet. Auch sollte überprüft werden, ob sich die Fehlergrenze bei einer wesentlich geringeren Anzahl von Werten verschiebt.

Der Mittelwert wurde in diesem Fall mit 40,2 Zeilen je Streifen berechnet. Im einzelnen wurden folgende Werte gefunden:

Nr.	Zellzahl je Streifen	x - M	(x - M) ²
1	45	+ 4,8	23,04
2	47	+ 6,8	46,24
3	47	+ 6,8	46,24
4	38	- 2,2	4,84
5	32	- 8,2	67,24
6	28	-12,2	148,8
7	33	- 7,2	51,84
8	49	+ 8,8	77,44
9	42	+ 1,8	3,24
10	41	+ 0,8	0,64
	M = 40,2		469,56

Die gefundenen Werte wurden in die Formel eingesetzt und es war dann:

$$C = \pm \sqrt{\frac{469,56}{10(10-1)}} = \pm 2,284$$

in Prozent ausgedrückt ergab das:

$$F = \frac{2,284 \cdot 100}{40,2} = \pm 5,68\%$$

Es wurden also sowohl bei 67, als auch bei 10 ausgezählten Streifen sehr ähnliche Werte für den mittleren Fehler gefunden; die Differenz zwischen den beiden Werten betrug nur 0,15%.

Bei der Auszählung von 10 Streifenpaaren ergab sich ein Mittelwert von 37 Zellen. Der mittlere Fehler des Mittelwertes wurde nach obiger Formel mit $\pm 4,61\%$ berechnet.

Da nun alle Proben auf die gleiche Weise verarbeitet und ausgewertet wurden, wird vorausgesetzt, daß alle Ergebnisse mit dem gleichen Fehler behaftet sind.

II. E R G E B N I S S E

Der besseren Übersicht halber sind die Zellbefunde chronologisch geordnet in Tabellen zusammengefaßt und graphisch dargestellt worden. Dazu sollen jetzt nähere Erläuterungen folgen.

1. Vorversuche

Tabelle 1 enthält die Befunde der untersuchten Schlachtrinder. Das erste Tier hat ein kleines Euter mit weich elastischem Parenchym; die Viertel sind regelmäßig ausgebildet und haben gut ausgebildete Striche. Die Euterlymphknoten sind kaum tastbar. Das ermolkene Sekret ist gelblich gefärbt, opalisierend und klebrig. Die bakteriologische Untersuchung ergibt einen ganz geringen Gehalt an Mikrokokken; das Sediment ist geringfügig erhöht.

Die zweite Kuh hat ein mittelgroßes, regelmäßiges Euter mit gut ausgebildeten Strichen und weich-elastischem Parenchym. Sie läßt sich leicht melken; die Milch ist nicht sichtbar verändert und die Euterlymphknoten sind nicht vergrößert. Die Keimzählung nach dem Koch'schen Plattenverfahren und die übrige bakteriologische Untersuchung haben ein negatives Ergebnis.

Das Euter der dritten Kuh zeigt ebenfalls keine klinischen Veränderungen. Die Milch ist nicht sichtbar verändert. Die bakteriologische Untersuchung und auch die Keimzählung verlaufen negativ.

Da es sich um Schlachtrinder handelte, die durch den Transport verschiedenen Belastungen unterworfen waren, mußte durchaus mit verhältnismäßig hohen Zellzahlen gerechnet werden. Besonders auffällig war dies bei der dritten Kuh. Bei allen drei Tieren lagen aber die Leukozytenwerte, bei negativem bakteriellen Befund, in keinem Fall über 20%, während die Epithelien mit 77 - 95% den Hauptanteil der gefundenen Zellen ausmachten.

Der eigentliche Zweck des Vorversuches war die farbe-technische Darstellung der Zellen aus den einzelnen Abschnitten des Euters und der morphologische Vergleich mit den Zellgebilden, die aus der intra vitam entnommenen Milch mikroskopisch dargestellt worden waren.

Besonders galt es, das Verhalten der Epithelzellen gegenüber der Peroxydase-Färbung zu prüfen. Dabei ergab sich, daß eine Differenzierung zwischen Leukozyten und Pseudopolymorphkernigen (degenerierten Epithelien) gut möglich ist, weil die Epithelzellen in keinem Falle, auch wenn sie aus dem lebenden, d.h. funktionstüchtigen Epithelverband entnommen wurden, eine Peroxydase-Reaktion erkennen ließen.

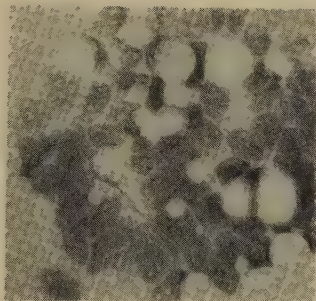


Abb.1
Drüsenepithel

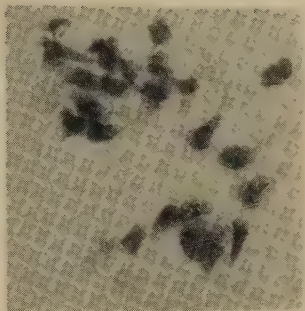


Abb.2
Mehrschichtiges Zylinderepithel aus der Zitzenzisterne

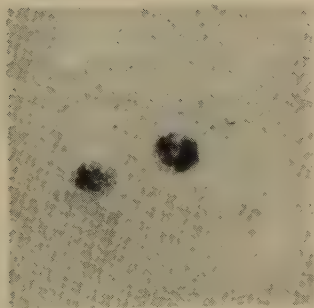


Abb.3
2 segmentkernige Leukozyten. Peroxydasegranulation links deutlich erkennbar

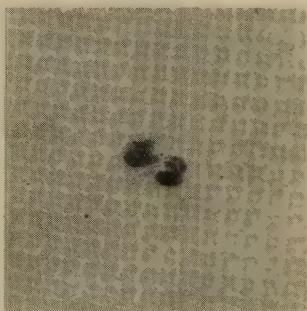


Abb.4
2 Epithelzellen, die rechte erscheint als pseudopolymorphkernig

Tabelle 1

Zellbefunde der Voruntersuchung

- 1) Färse (schwarzbuntes Niederungsrind), ca. 2 Jahre alt, etwa im 8. Monat tragend.

	pH	Leukoz. % x 1000 pro ml	Lymphoz. % x 1000 pro ml	Epith. % x 1000 pro ml	Gesamt x 1000 pro ml			
VL	6,55	nicht ausgewertet, Ausstriche abgelöst						
VR	6,5	43,3	10,6	20,0	4,9	346,6	84,5	409,9
HL	6,35	20,0	3,9	16,7	3,2	476,6	92,9	513,3
HR	6,3	16,7	3,7	3,3	0,7	433,3	95,6	453,3

- 2) Kuh (schwarzbuntes Niederungsrind), ca. 8 Jahre alt, nicht tragend.

	pH	Leukoz. % x 1000 pro ml	Lymphoz. % x 1000 pro ml	Epith. % x 1000 pro ml	Gesamt x 1000 pro ml			
VL	6,4	40,0	5,0	40,0	5,0	716,7	90,0	796,7
VR	7,0	283,3	17,5	53,3	3,3	1280,0	79,2	1616,7
HL	6,65	20,0	4,1	13,3	2,7	456,7	93,2	490,0
HR	6,5	30,0	5,2	23,3	4,0	523,3	90,8	576,7

- 3) Kuh (schwarzbuntes Niederungsrind), ca. 7 Jahre alt, nicht tragend.

	pH	Leukoz. % x 1000 pro ml	Lymphoz. % x 1000 pro ml	Epith. % x 1000 pro ml	Gesamt x 1000 pro ml			
VL	7,1	143,3	7,7	33,3	1,8	1690,0	90,5	1866,7
VR	7,1	613,3	19,7	90,0	2,8	2416,6	77,5	3120,0
HL	6,8	80,0	13,1	33,3	5,5	496,7	81,4	610,0
HR	7,1	176,7	9,0	43,3	2,2	1750,0	88,8	1970,0

2. Hauptversuche

a) Zellgehalt

1) Kuh Nr. 1 "Agathe" (Schwarzbuntes Niederungsrind) (s. Tabelle 2 und Abbildung 5)

Das Tier wurde am 13.10.1957 geboren und hat am 25.9.1961 gekalbt. Es war die zweite Laktationsperiode. Die erste Milchprobe wurde am 10.11.1961 entnommen (46. Laktationstag). Die tägliche Milchleistung betrug 9 kg. Das Tier war klinisch gesund. Das Euter war klein, regelmäßig ausgebildet mit fest-weichem Parenchym. Die Kuh ließ sich leicht melken. Die Euterlymphknoten waren nicht vergrößert. Die Milch war während der Zeit der Untersuchungen nicht sinnfällig verändert.

In Abbildung 5 sind die Zellbefunde graphisch dargestellt. Es fallen große Schwankungen im Epithelzellgehalt auf, besonders bei den Proben 1-3, sowie 10 und 12. Bei den Proben 19 und 21 hingegen gehen Steigerung des Leukozyten- und Epithelzellgehaltes synchron, was evtl. einen Verdacht auf eine manifeste Sekretionsstörung begründet. Zwischen Leukozyten- und Lymphozytengehalt besteht teilweise eine gewisse Parallelität.

Nachuntersuchung:

Die dritte Laktationsperiode begann am 28.9.1962. Die Proben wurden am 215., 222., 228. und 237. Laktationstag entnommen. Ein direkter Vergleich zur vergangenen Laktation ist nicht möglich, weil die Untersuchungen am 217. Tag beendet wurden. Betrachtet man die Nachuntersuchung aber als Fortsetzung, so ergibt sich ein Bild, das gut in den gegebenen Rahmen paßt.

T A B E L L E 2

Kuh Nr. 1

"Agathe", geb. 13.10.1957, gekalbt 25.9.1961 (2.Kalb)

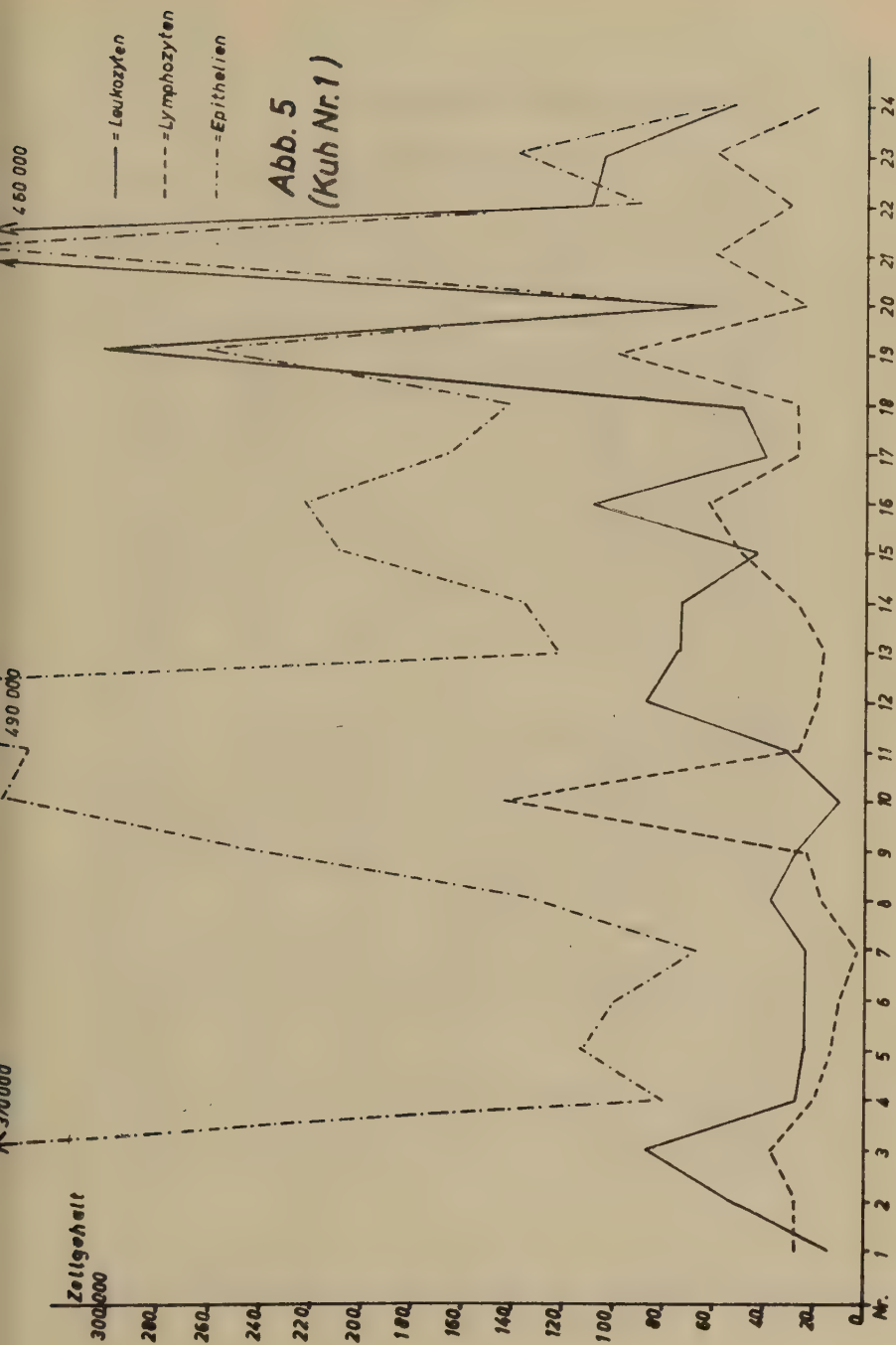
Milchleistung: 9 kg

Rasse: Schwarzbuntes Niederungsrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,6	13,3	1,4	26,7	2,9	896,0	95,7	930,0
2	6,6	53,3	12,2	26,7	6,1	356,7	81,7	436,7
3	6,75	86,7	17,4	36,7	7,4	373,3	75,2	496,7
4	6,7	26,7	21,1	20,0	15,8	80,0	63,1	126,7
5	6,6	23,3	15,5	13,3	8,9	113,3	75,6	149,9
6	6,7	23,3	17,5	10,0	7,5	100,0	75,0	133,3
7	6,7	23,3	25,0	3,3	3,5	66,7	71,5	93,3
8	6,6	36,7	19,7	16,7	8,9	133,3	71,4	186,7
9	6,7	26,7	8,9	23,3	7,8	250,0	83,3	300,0
10	6,6	10,0	2,0	143,3	28,9	343,3	69,1	496,6
11	6,65	30,0	7,7	26,7	6,8	333,3	85,5	390,0
12	6,65	86,7	14,5	20,0	3,4	490,0	82,1	596,7
13	6,6	73,3	34,4	16,7	7,8	123,3	57,8	213,3
14	6,65	73,3	31,0	26,7	11,3	136,6	57,7	236,6
15	6,6	43,3	14,3	50,0	16,5	210,0	69,2	303,3
16	6,65	106,7	27,1	63,3	16,1	223,3	56,8	393,3
17	6,6	40,0	17,1	16,7	7,2	166,7	71,4	223,4
18	6,6	50,0	22,7	26,7	12,1	143,3	65,2	220,0
19	6,7	303,3	45,5	100,0	15,0	263,3	39,5	666,6
20	6,6	60,0	36,7	23,3	14,3	80,0	49,0	163,3
21	6,7	460,0	52,3	60,0	6,9	360,0	40,9	880,0
22	6,65	110,0	47,8	30,0	13,0	90,0	39,1	230,0
23	6,8	106,7	34,8	60,0	19,6	140,0	45,6	306,7
24	6,55	53,3	44,5	16,6	13,8	50,0	41,7	119,9

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL	6,65	26,7	12,1	6,7	3,1	186,7	84,8	220,1
	VR	6,7	153,3	28,2	33,3	6,1	356,7	65,7	543,3
	HL	6,65	76,7	16,9	30,0	6,6	346,7	76,5	453,4
	HR	6,7	350,0	23,6	26,7	1,8	1103,3	74,6	1480,0
1	Ges.	6,7	180,0	34,6	16,7	3,2	323,3	62,2	520,0
2	"	6,65	140,0	26,8	10,0	1,9	373,3	71,3	523,3
3	"	6,6	96,7	24,8	13,3	3,4	280,0	71,8	390,0
4	"	6,6	33,3	33,3	6,7	6,7	60,0	60,0	100,0



2) Zu Tabelle 3 und Abbildung 6

Kuh Nr. 2 "Fabel" (Graubraunes Höhenvieh)

Die Kuh ist am 24.11.1958 geboren und hat am 25.9.1961 zum ersten Male gekalbt. Die tägliche Milchleistung betrug 8 kg. Das Tier war klinisch gesund. Das Euter war klein, regelmäßig ausgebildet, mit relativ langen Strichen. Das Parenchym hatte eine weich-elastische Konsistenz, die Lymphknoten waren nicht vergrößert. Die Kuh ließ sich leicht melken. Die erste Probenentnahme erfolgte ebenfalls am 46. Laktationstag. Die Milch wies während des Versuches keine sinnfälligen Veränderungen auf.

Abbildung 6 stellt die Zellbefunde graphisch dar. Auch hier schwanken Leukozyten- und Epithelzellgehalt stark, wobei eine gegenseitige Abhängigkeit zwischen Leukozyten und Epithelien besonders bei den Proben 6 bis 13 deutlich wird.

Die Nachuntersuchung erfolgte am 224., 231., 237. und 246. Tag der zweiten Laktationsperiode.

Auch in diesem Fall lassen sich erste und zweite Laktation nicht direkt miteinander vergleichen, da der Hauptversuch auch hier mit dem 217. Laktationstag abgeschlossen wurde.

Betrachtet man die Nachuntersuchung als Fortsetzung, so kann man eine Erhöhung des Zellgehaltes gegenüber der vorhergehenden Laktationsperiode feststellen.

T A B E L L E 3

Kuh Nr. 2

"Fabel", geb. 24.11.1958, gekalbt 25.9.1961 (1. Kalb)

Milchleistung: 8 kg

Rasse: Graubraunes Höhenvieh

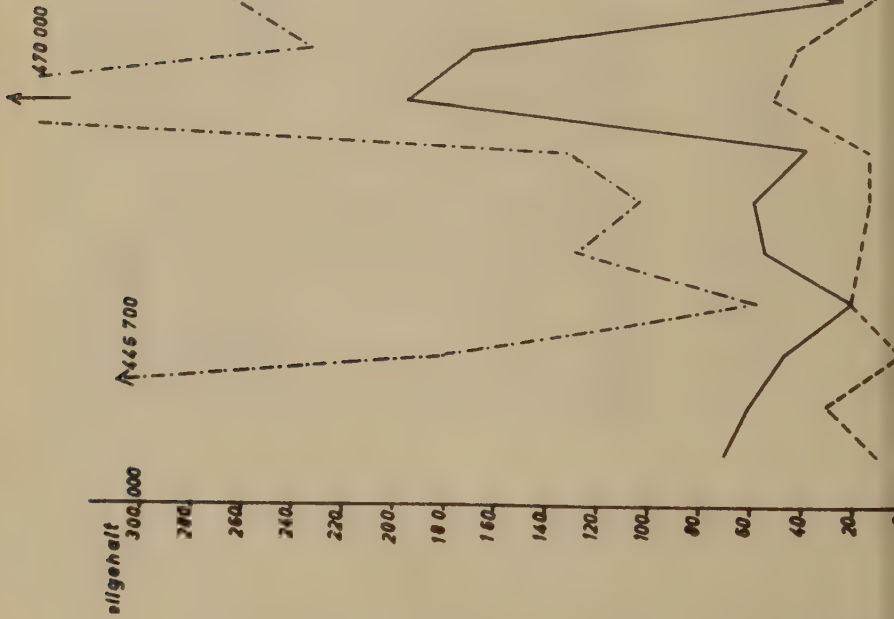
Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,6	70,0	7,6	10,0	1,1	846,7	91,3	926,7
2	6,65	60,0	11,2	30,0	5,6	446,7	83,2	536,7
3	6,75	46,7	21,2	-	-	173,3	87,8	220,0
4	6,65	20,0	20,7	20,0	20,7	56,7	58,6	96,7
5	6,75	53,3	27,1	16,7	8,5	126,7	64,4	196,7
6	6,8	56,7	32,7	13,3	7,7	103,3	56,6	173,3
7	6,75	36,7	20,4	13,3	7,4	130,0	72,2	180,0
8	6,8	193,3	27,1	50,0	7,0	470,0	65,9	713,3
9	6,7	166,7	38,1	40,0	9,2	230,0	52,7	436,7
10	6,65	23,3	7,6	10,0	3,4	263,3	89,0	296,6
11	6,8	123,3	35,6	23,3	6,7	200,0	57,7	346,6
12	6,8	193,3	41,1	26,7	5,5	250,0	53,2	470,0
13	6,75	30,0	33,3	3,3	3,7	56,7	63,0	90,0
14	6,8	43,3	34,2	6,7	5,3	76,7	60,5	126,7
15	6,8	10,0	5,1	10,0	5,1	176,7	89,8	196,7
16	6,8	26,7	8,2	36,7	11,2	263,3	80,6	326,7
17	6,8	60,0	28,6	33,3	15,8	116,7	55,6	210,0
18	6,8	76,7	36,5	16,7	7,9	116,7	55,6	210,1
19	6,8	143,3	44,3	50,0	15,5	130,0	40,2	323,3
20	6,75	50,0	29,4	40,0	23,5	80,0	47,1	170,0
21	6,75	146,7	52,4	16,7	5,9	116,7	41,7	280,1
22	6,75	140,0	54,5	36,7	14,3	80,0	31,2	256,7
23	6,7	16,7	16,7	36,7	36,7	46,7	46,6	100,1
24	6,75	53,3	43,2	10,0	8,1	60,0	48,7	123,3

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL	6,75	233,3	41,2	10,0	1,8	323,3	57,0	566,6
	VR	6,75	80,0	33,3	6,7	2,8	153,3	63,9	240,0
	HL	6,8	160,0	49,0	10,0	3,1	156,7	47,9	326,7
	HR	6,75	96,7	26,6	10,0	2,7	256,7	70,7	362,7
1	Ges.	6,75	80,0	30,8	10,0	3,8	170,0	65,4	260,0
2	"	6,75	106,7	28,6	10,0	2,7	256,7	68,7	373,4
3	"	6,7	440,0	50,8	10,0	1,2	416,7	48,0	866,7
4	"	6,8	210,0	45,3	23,3	5,0	230,0	49,7	463,3

— = Leukozyten
- - - = Lymphozyten
- · - · = Epithelien

Abb. 6
(Kuh Nr. 2)



3) Zu Tabelle 4 und Abbildung 7

Kuh Nr. 3 "Aga" (Schwarzbuntes Niederungsrind)
Das Tier wurde am 13.10.1957 geboren. Am 9.10.1961
hat die Kuh zum 2. Male gekalbt. Sie gab 13 kg Milch
täglich. Das Euter war regelmäßig ausgebildet, hatte
ein weich-elastisches Parenchym und mittellange
Striche. Die Euterlymphknoten waren nicht vergrößert.
Die Kuh ließ sich leicht melken. Die erste Milch-
probe wurde am 32. Laktationstag entnommen. Während
der Dauer des Versuches ergab die organoleptische
Untersuchung der Milch keine abweichenden Befunde.

Während der ersten Hälfte der Untersuchung lag
der Gehalt an Epithelzellen weit über dem an Leuko-
zyten. In der zweiten Hälfte gingen Leukozyten- und
Epithelzellgehalt bei gleichzeitigem Anstieg der
Leukozytenwerte weitgehend parallel.
Abbildung 7 stellt die Zellbefunde der Tabelle 4
graphisch dar.

Nachuntersuchung

In der dritten Laktationsperiode wurden am 32., 39.,
45. und 54. Tag Milchproben zur Nachuntersuchung
entnommen. Das entspricht den Proben 1 bis 4 des
Hauptversuchs. Beim Vergleich der jeweils ent-
sprechenden Proben konnte im Gegensatz zu Versuch
1, 4, 6 und 7 keine Übereinstimmung festgestellt
werden.

T A B E L L E 4

Kuh Nr. 3

"Aga", geb. 13.10.1957, gekalbt 9.10. 1961 (2. Kalb)

Milchleistung: 13 kg

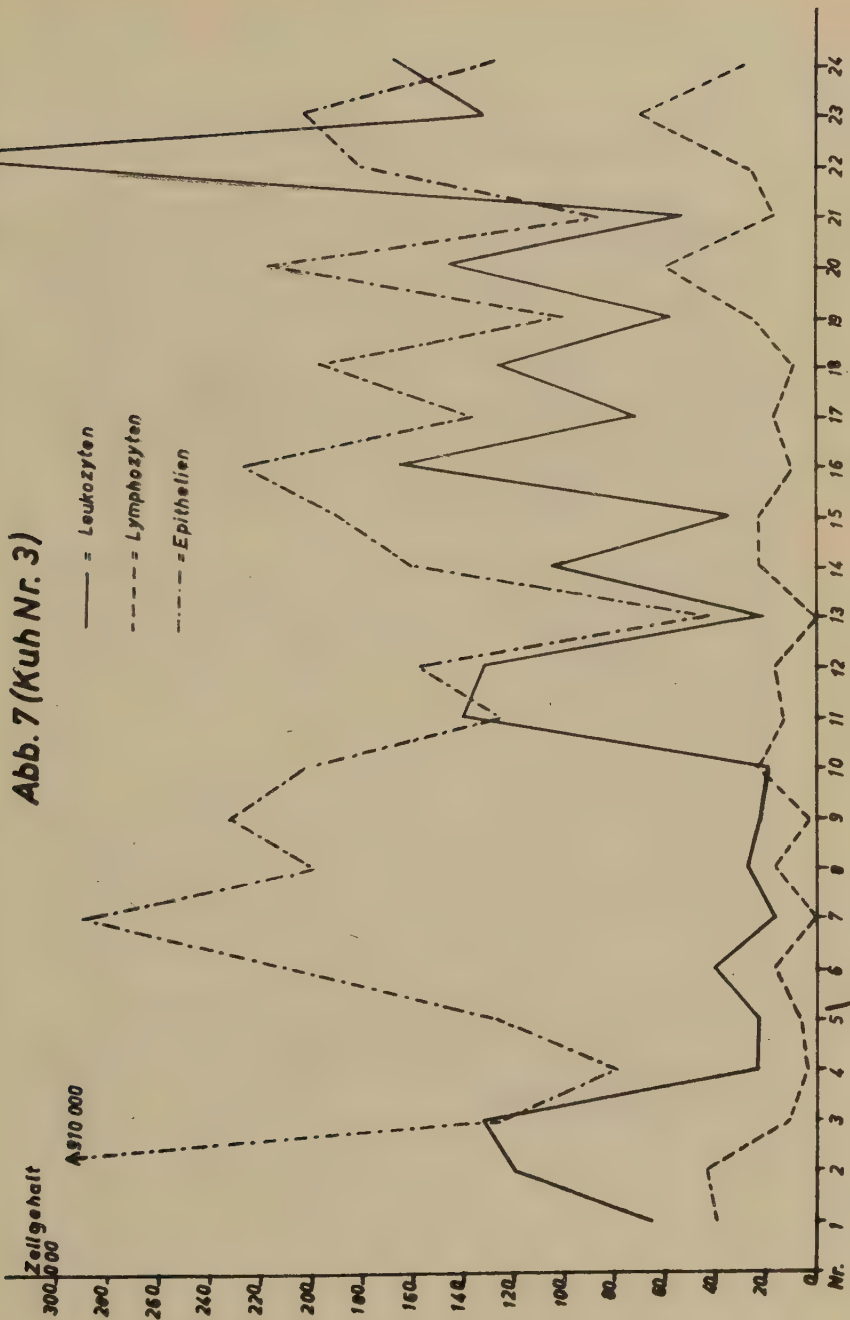
Rasse: Schwarzbuntes Niederungsgrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,6	66,7	7,3	40,0	4,4	810,0	88,3	916,7
2	6,6	120,0	11,2	43,3	4,0	910,0	84,8	1073,3
3	6,75	133,3	49,4	10,0	3,7	126,7	46,9	270,0
4	6,75	23,3	21,9	3,3	3,1	80,0	75,0	106,7
5	6,7	23,3	14,9	6,7	4,2	126,7	80,9	156,7
6	6,75	40,0	15,2	16,7	6,3	206,7	78,5	163,4
7	6,7	16,7	5,4	-	-	290,0	94,6	306,7
8	6,6	26,7	11,0	16,7	6,7	200,0	82,3	243,4
9	6,65	23,3	9,0	3,3	1,3	233,3	89,7	259,9
10	6,6	10,0	4,3	23,3	9,8	203,3	85,9	236,6
11	6,6	140,0	50,0	13,3	4,8	126,7	45,2	280,0
12	6,75	133,3	43,5	16,7	5,4	156,7	51,1	306,7
13	6,7	10,0	18,8	-	-	43,3	81,2	53,3
14	6,75	106,7	36,8	23,3	8,0	160,0	55,2	290,0
15	6,7	36,7	14,7	23,3	9,3	90,0	76,0	250,0
16	6,75	166,7	41,3	10,0	2,5	226,7	56,2	403,4
17	6,7	73,3	32,4	16,7	7,4	136,7	60,2	226,7
18	6,7	126,7	38,0	10,0	3,0	196,7	59,0	333,4
19	6,7	60,0	32,1	26,7	14,3	100,0	53,6	186,7
20	6,6	146,7	34,6	60,0	14,2	216,7	51,2	423,4
21	6,8	53,3	34,1	16,7	10,0	86,7	55,3	156,7
22	6,75	353,3	62,7	26,7	4,7	183,3	32,6	563,3
23	6,6	133,3	32,8	70,0	17,2	203,3	50,0	406,6
24	6,75	166,7	51,0	30,0	9,2	130,0	39,8	326,7

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL	6,6	110,0	29,4	16,7	4,5	246,7	66,1	373,4
	VR	6,65	273,3	38,9	6,7	0,9	423,3	60,2	703,3
	HL	6,6	123,3	39,3	16,7	5,3	173,3	55,4	313,3
	HR	6,6	253,3	36,7	23,3	3,4	413,3	59,9	689,9
1	Ges.	6,6	156,7	22,0	36,7	5,1	520,0	72,9	713,4
2	"	6,65	93,3	23,7	6,7	1,7	293,3	74,6	393,3
3	"	6,6	273,3	36,9	3,3	0,5	463,3	62,6	739,9
4	"	6,7	220,0	35,1	10,0	1,6	396,7	63,3	626,7

Abb. 7 (Kuh Nr. 3)



4) Zu Tabelle 5 und Abbildung 8

Kuh Nr. 4 "Rock" (Schwarzbuntes Niederungsgrind)
Die Kuh wurde am 1.11.1956 geboren. Sie hat am 21.10.1961 zum 3. Male gekalbt. Sie war klinisch gesund und gab täglich 19 kg Milch. Das Euter war groß und hatte ein relativ festes elastisches Parenchym. Die Viertel waren regelmäßig gebaut und hatten gut ausgebildete Striche. Die Euterlymphknoten waren nicht verändert. Die erste Milchprobe wurde am 20. Laktationstag entnommen. Die Milch zeigte auch bei dieser Kuh keine sinnfälligen Veränderungen während der Dauer des Versuches.

Die ersten Milchproben wiesen relativ starke Schwankungen im Zellgehalt auf, die sich aber nachher weitgehend verminderten und dann recht konstante Werte einhielten.

Abbildung 8 stellt die Zellbefunde der Tabelle 5 graphisch dar.

Nachuntersuchung

Am 98., 105., 111 und 120. Tag der vierten Laktation wurde die Nachuntersuchung durchgeführt. Zeitlich konnten somit die Proben 11 bis 14 zum Vergleich herangezogen werden. Die Leukozyten- und Lymphozytenwerte zeigten nur geringe Unterschiede, während bei den Epithelien die Abweichungen größer waren. Zieht man auch die vorhergehenden und folgenden Proben des Hauptversuches zum Vergleich heran, so ergeben sich doch recht ähnliche Bilder in den beiden Laktationsperioden.

T A B E L L E 5

Kuh Nr. 4

"Rock", geb. 1.11.1956, gekalbt 21.10.1961 (3. Kalb)

Milchleistung: 19 kg

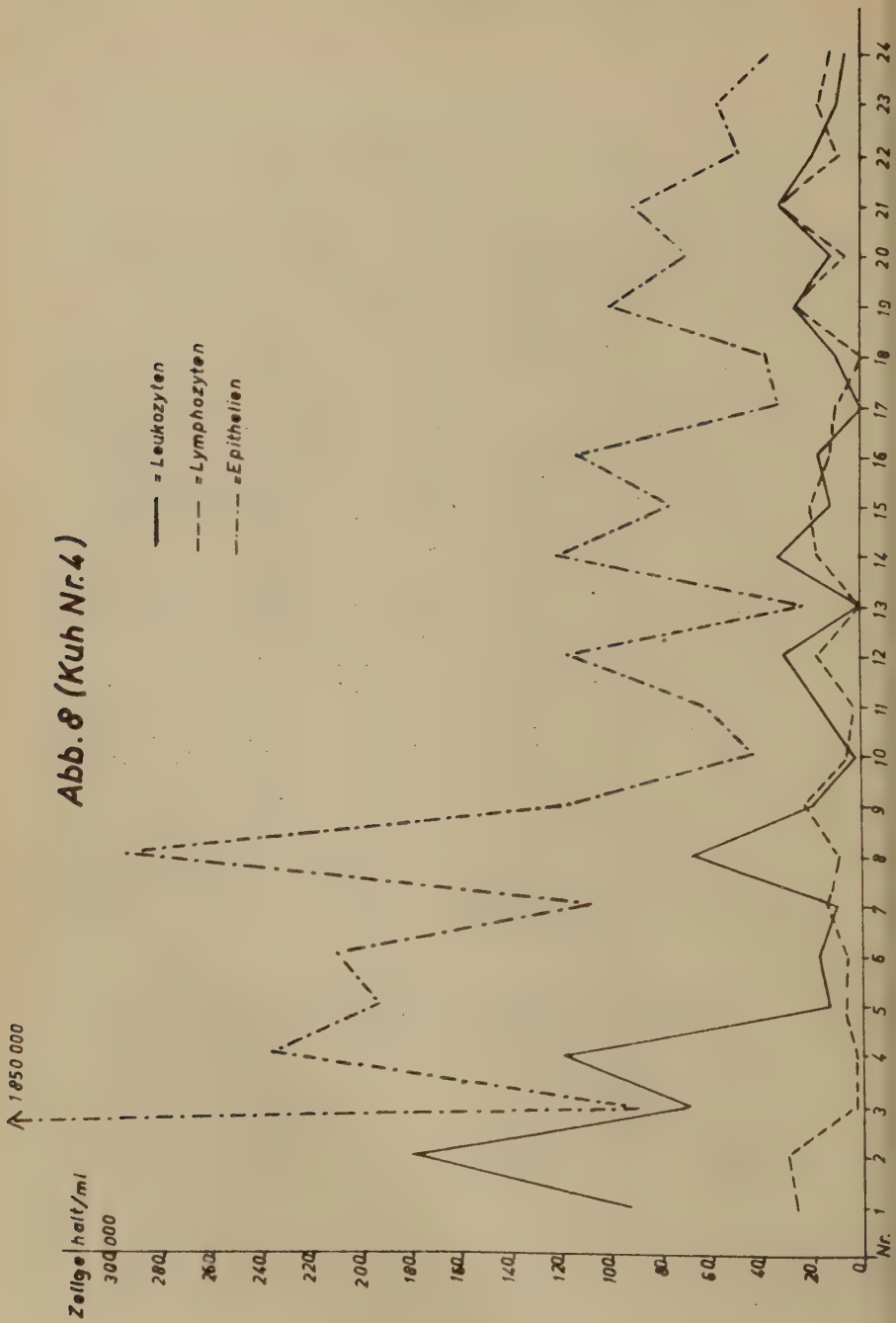
Rasse: Schwarzbuntes Niederungsrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,5	93,3	11,3	26,6	3,2	703,3	85,5	823,2
2	6,55	183,3	8,9	30,0	1,5	1850,0	89,6	2063,3
3	6,65	70,0	42,9	3,3	2,0	90,0	55,1	163,3
4	6,6	120,0	33,4	3,3	0,9	236,7	65,7	360,0
5	6,6	13,3	6,3	6,7	3,1	193,3	90,6	213,3
6	6,7	16,7	7,1	6,7	2,9	210,0	90,0	233,4
7	6,7	10,0	7,7	13,3	10,3	106,7	82,0	130,0
8	6,7	66,7	17,9	10,0	2,7	296,7	79,4	373,4
9	6,65	20,0	12,2	23,3	14,3	120,0	73,5	163,3
10	6,6	3,3	6,2	6,7	12,5	43,3	81,3	53,3
11	6,6	16,7	20,0	3,3	4,0	63,3	76,0	83,3
12	6,6	30,0	18,4	16,7	10,2	116,7	71,4	163,4
13	6,6	-	-	-	-	23,3	100,0	23,3
14	6,6	33,3	19,6	16,7	9,8	120,0	70,6	170,0
15	6,6	13,3	12,1	20,0	18,2	76,7	69,7	110,0
16	6,6	16,7	11,6	13,3	9,3	113,3	79,1	143,3
17	6,5	-	-	10,0	23,1	33,3	76,9	43,3
18	6,55	10,0	21,4	-	-	36,7	78,6	46,7
19	6,6	26,7	17,4	26,7	17,4	100,0	65,2	153,4
20	6,55	13,3	14,8	6,7	7,4	70,0	77,8	90,0
21	6,55	33,3	21,3	3,3	21,3	90,0	57,4	156,6
22	6,6	20,0	25,0	10,0	12,5	50,0	62,5	80,0
23	6,6	10,0	12,0	16,7	20,0	56,7	68,0	83,4
24	6,65	6,7	11,8	13,3	23,5	36,7	64,7	56,7

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL	6,6	33,3	29,4	3,3	2,9	76,7	67,7	113,3
	VR	6,65	36,7	29,7	3,3	2,7	83,3	67,6	123,3
	HL	6,6	46,7	35,9	6,7	5,1	76,7	59,0	130,1
	HR	6,65	50,0	30,0	-	-	116,7	70,0	166,7
1	Ges.	6,65	40,0	35,3	3,3	2,9	70,0	61,8	113,3
2	"	6,6	13,3	14,8	3,3	3,7	73,3	81,5	89,9
3	"	6,65	36,7	9,6	10,0	2,6	336,7	87,8	383,4
4	"	6,55	6,7	15,4	10,0	23,1	26,7	61,5	43,4

Abb. 8 (Kuh Nr. 4)



5) Zu Tabelle 6 und Abbildung 9

Kuh Nr. 5 "Tip" (Schwarzbuntes Niederungsrind)

Die Kuh "Tip" wurde 1957 geboren und hat am 22.12.1961 zum 2. Male gekalbt. Sie war klinisch gesund.

Zur Zeit der Untersuchung gab sie 16 kg Milch.

Das Euter war mittelgroß und hatte ein festes, elastisches Parenchym. Die Striche des regelmäßigen Euters waren relativ dünn; die Kuh ließ sich aber trotzdem gut mit der Maschine melken. Die Euterlymphknoten waren nicht vergrößert. Die Probenentnahme begann mit dem 27. Laktationstag.

Die Zellgehalte schwankten relativ stark, doch waren auch hier gewisse Parallelen zwischen Leukozyten- und Epithelzellgehalt zu bemerken.

Abbildung 9 stellt die Zellbefunde der Tabelle 6 graphisch dar.

Nachuntersuchung

Von dieser Kuh wurden in der dritten Laktation keine Proben entnommen, weil sie zum Zeitpunkt des Abschlusses der Untersuchungen noch nicht gekalbt hatte.

T A B E L L E 6

Kuh Nr. 5

"Tip", geb. 30.5.1957, gekalbt 22,12,1961 (2. Kalb)

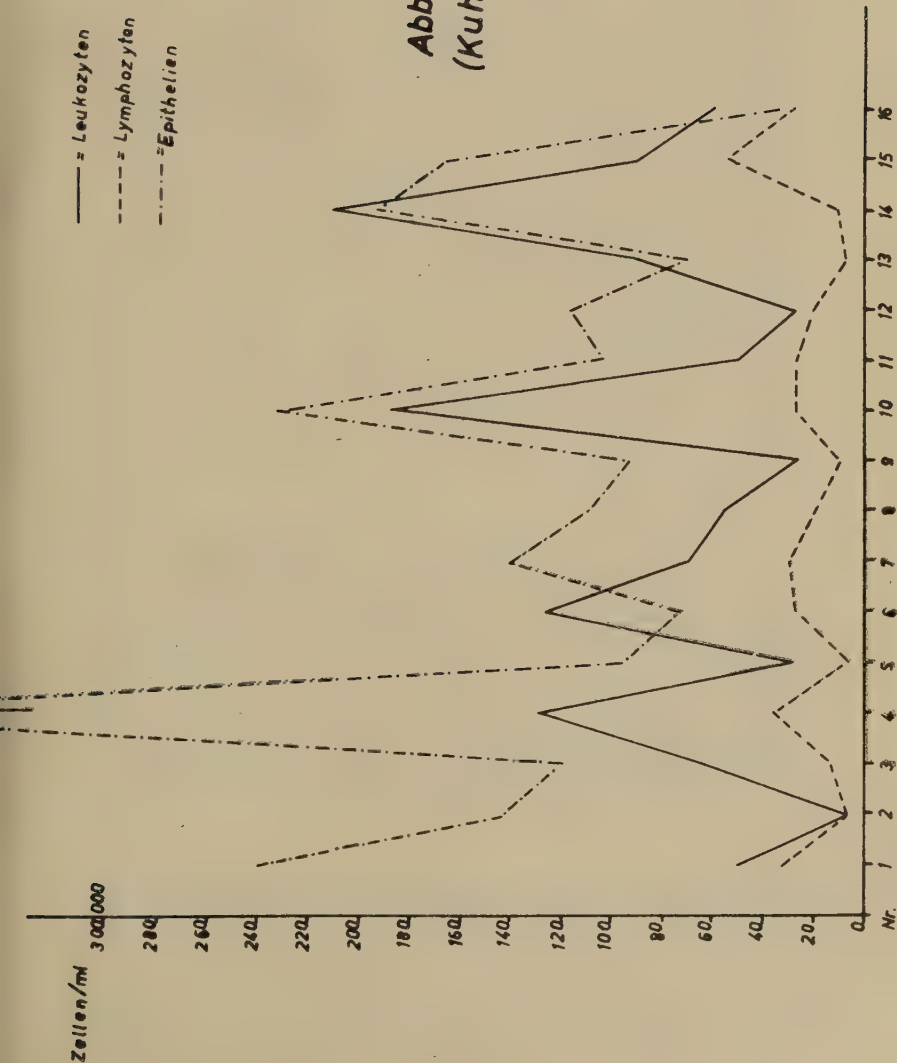
Milchleistung: 16 kg

Rasse: Schwarzbuntes Niederungsrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,55	50,0	15,5	33,3	10,3	240,0	74,2	323,3
2	6,55	6,7	4,3	6,7	4,3	143,0	91,4	156,3
3	6,6	63,3	32,2	13,3	6,8	120,0	61,0	196,7
4	6,6	110,0	18,9	36,3	6,3	433,3	74,8	579,7
5	6,6	26,7	20,5	6,7	5,1	96,7	74,4	130,0
6	6,6	106,7	51,6	26,7	12,9	73,3	35,5	206,7
7	6,8	70,0	29,2	30,0	12,5	140,0	58,3	240,0
8	6,75	56,7	30,4	20,0	10,7	110,0	58,9	186,7
9	6,6	26,7	20,5	10,0	7,7	93,3	71,8	130,0
10	6,6	190,0	42,2	26,7	5,9	233,3	51,9	450,0
11	6,55	50,0	27,8	26,7	14,8	103,3	57,4	180,0
12	6,6	26,7	16,3	20,0	12,3	116,7	71,4	163,3
13	6,6	90,0	54,0	6,7	4,0	70,0	42,0	166,7
14	6,6	213,3	51,2	10,0	2,4	193,3	46,4	416,7
15	6,6	90,0	29,0	53,3	17,2	166,7	53,8	310,0
16	6,6	60,0	49,9	26,7	22,2	33,7	27,9	120,3

Zur Zeit der Nachuntersuchung stand die Kuh trocken.

Abb. 9
(Kuh Nr. 5)



6) Zu Tabelle 7 und Abbildung 10

Kuh Nr. 6 "Birke" (Angler)

Die Anglerkuh "Birke" wurde 1958 geboren und hat am 28.12.1961 zum ersten Male gekalbt. Zur Zeit der Untersuchung gab sie 15 kg Milch täglich. Sie war klinisch gesund. Das Euter war klein mit einem sehr straffen elastischen Parenchym. Die regelmäßigen Viertel hatten sehr feine Striche. Die Kuh ließ sich sehr leicht melken. Die erste Milchprobe wurde am 14. Laktationstag entnommen. Diese und auch die folgenden Proben zeigten keine organoleptisch wahrnehmbaren Veränderungen.

Der Leukozytengehalt war von Anfang an fast gleich hoch, während der Epithelzellgehalt größere Schwankungen aufwies.

Die Zellbefunde der Tabelle 7 sind in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

Nachuntersuchung

Die Proben für die Nachuntersuchung wurden in der zweiten Laktation am 112., 119., 125. und 134. Tag entnommen. Das entspricht etwa den Proben Nr. 15 bis 17 der ersten Untersuchung. Hier ergaben sich im Leukozytengehalt deutliche Übereinstimmungen, während die Epithelzellzahlen und besonders die Lymphozytenzahlen Abweichungen erkennen ließen, die aber durchaus dem Gesamtbild entsprachen.

T A B E L L E 7

Kuh Nr. 6

"Birke", geb. 8.4.1958, gekalbt 28.12.1961 (1. Kalb)

Milchleistung: 15 kg

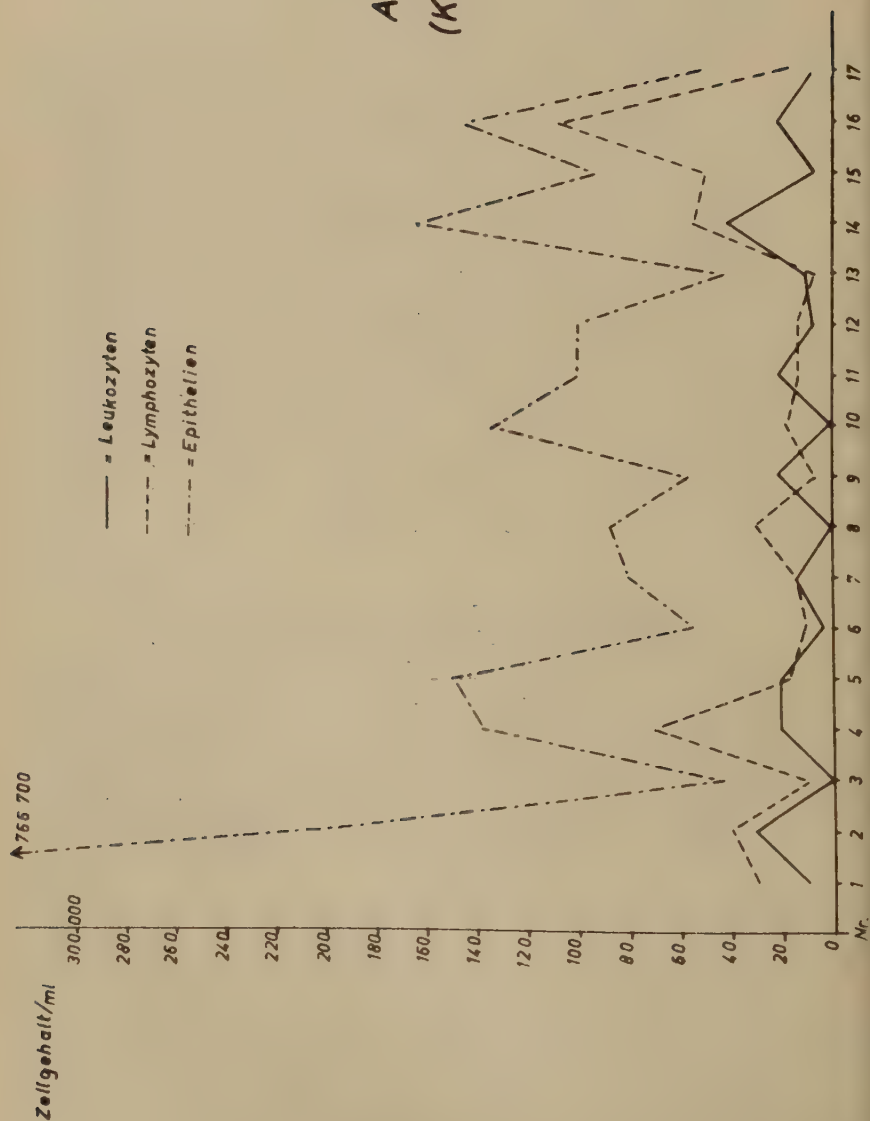
Rasse: Angler

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,55	10,0	1,2	30,0	3,8	766,7	95,0	806,7
2	6,5	30,0	11,2	40,0	14,8	200,0	74,1	270,0
3	6,6	-	-	10,0	18,8	43,3	81,2	53,3
4	6,6	20,0	8,8	70,0	31,0	136,7	60,2	226,7
5	6,6	20,0	10,7	16,7	8,9	150,0	80,4	186,7
6	6,6	3,3	4,2	10,0	12,5	55,7	83,3	80,0
7	6,65	13,3	12,5	13,3	12,5	80,0	75,0	106,7
8	6,8	-	-	30,0	25,7	86,7	74,3	116,7
9	6,6	20,0	24,0	6,7	8,0	56,7	68,0	83,3
10	6,5	-	-	16,7	11,1	133,3	88,9	150,0
11	6,55	20,0	15,0	13,3	11,0	100,0	75,0	133,3
12	6,6	6,7	5,6	13,3	11,1	100,0	83,3	120,0
13	6,6	10,0	16,7	6,7	11,1	43,3	72,2	60,0
14	6,6	40,0	15,6	53,3	20,8	163,3	63,6	256,7
15	6,6	6,7	4,5	50,0	33,3	93,3	62,2	150,0
16	6,65	20,0	7,3	106,7	39,0	146,7	53,7	273,3
17	6,65	6,7	9,1	16,7	22,7	50,0	68,2	73,3

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL	6,75	3,3	2,6	6,7	5,1	120,0	92,3	130,0
	VR	6,7	6,7	6,9	3,3	3,4	86,7	89,7	96,7
	HL	6,75	6,7	2,8	-	-	230,0	97,2	236,7
	HR	6,7	-	-	13,3	5,3	240,0	94,7	253,3
1	Ges.	6,75	6,7	4,3	13,3	8,7	133,3	97,0	153,3
2	"	6,65	6,7	3,3	13,3	6,7	180,0	90,0	200,0
3	"	6,65	6,7	7,1	3,3	3,6	83,3	89,3	93,3
4	"	6,6	-	-	6,7	14,3	40,0	85,7	46,7

Abb. 10
(Kuh Nr. 6)



7) Zu Tabelle 8 und Abbildung 11

Kuh "Puschel" (Angler x sb NR)

Die Kuh Puschel war eine Kreuzung zwischen schwarz-buntem Niederungsrind und Angler. Sie wurde 1953 geboren und hatte am 1.1.1962 zum 7. Male gekalbt. Sie gab 15 kg Milch täglich. Das Euter war groß, mit festem Parenchym. Die regelmäßigen Viertel hatten sehr große und lange Striche, die sich leicht melken ließen. Die Euterlymphknoten waren nicht vergrößert. Die Kuh war gesund. Die erste Milchprobe wurde am 11. Laktationstag entnommen. Während der Dauer des Versuches ergab die organoleptische Untersuchung der Milch keine abweichenden Befunde.

Diese Kuh zeigte wieder ein weitgehend paralleles Verhalten von Leukozyten- und Epithelzellgehalt. Die Zellbefunde der Tabelle 8 sind in Abbildung 11 graphisch dargestellt.

Nachuntersuchung

Die am 120., 127., 133. und 142. Tag der 8. Laktation erfolgte Nachuntersuchung entsprach zeitlich etwa den Proben Nr. 16 und 17 des Hauptversuches. Die Ergebnisse der Zellzählungen in den aufeinanderfolgenden Melkperioden waren sich bei dieser Kuh sehr ähnlich.

T A B E L L E 8

Kuh Nr. 7

"Puschel, geb. 22.5.1953, gekalbt 1.1.1962 (7. Kalb)

Milchleistung: 15 kg

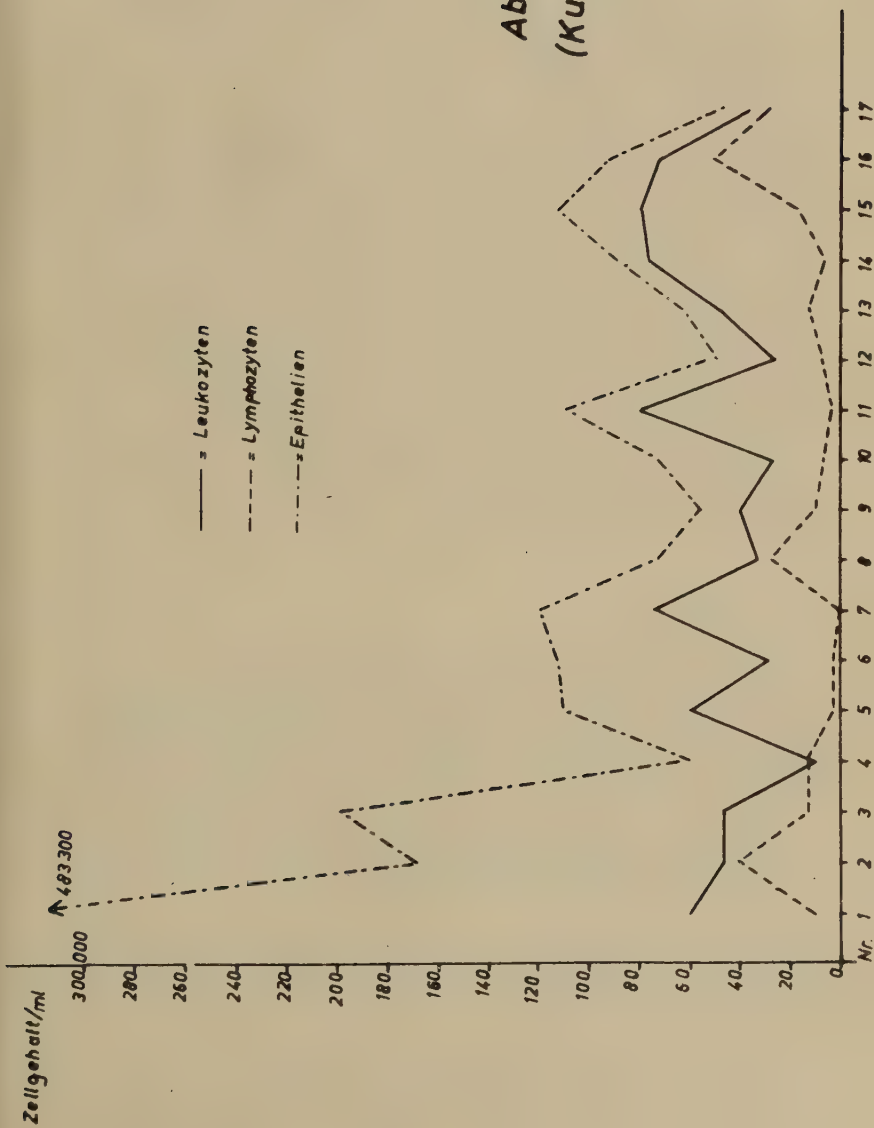
Rasse: Kreuzung Angler x schwarzbuntes Niederungsrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,45	60,0	10,8	10,0	1,8	483,3	87,0	553,3
2	6,45	46,7	18,2	40,0	15,6	170,0	66,2	256,7
3	6,5	46,7	18,0	13,3	5,6	200,0	76,9	260,0
4	6,55	10,0	12,0	13,3	16,0	60,0	72,0	83,3
5	6,55	60,0	34,6	3,3	2,0	110,0	63,4	173,3
6	6,6	30,0	20,5	3,3	2,3	113,3	77,2	146,7
7	6,6	73,3	37,9	-	-	120,0	62,1	193,3
8	6,6	33,3	25,0	26,7	20,0	73,3	55,0	133,3
9	6,65	40,0	37,5	10,0	9,4	56,7	53,1	106,7
10	6,5	26,7	25,0	6,7	6,3	73,3	48,7	106,7
11	6,5	80,0	41,4	3,3	1,7	110,0	56,9	193,3
12	6,7	26,7	32,0	6,7	8,0	50,0	60,0	83,3
13	6,6	46,7	37,8	13,3	10,8	63,3	51,4	123,3
14	6,6	76,7	44,2	6,7	3,8	90,0	52,0	173,3
15	6,6	80,0	38,1	16,7	7,9	113,3	54,0	210,0
16	6,6	73,3	33,8	50,0	23,1	93,3	43,1	216,7
17	6,6	36,7	23,4	30,0	26,5	46,7	41,1	113,3

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	VL 6,65	43,3	25,0	3,3	2,0	126,7	73,0	173,3
	VR 6,65	163,3	47,1	6,7	2,0	176,7	50,9	346,7
	HL 6,6)	konnten nicht ausgewertet werden						
	HR 6,65)							
1	Ges. 6,65	53,3	43,8	3,3	2,2	96,7	63,0	153,3
2	" 6,6	23,3	16,0	6,7	4,5	116,7	79,5	146,7
3	" 6,55	30,0	31,0	-	-	66,7	69,0	96,7
4	" 6,55	73,3	33,3	3,3	1,5	143,3	65,2	220,0

Abb. 11
(Kuh Nr. 7)



8) Zu Tabelle 9 und Abbildung 12

Kuh "Qualle" (Schwarzbuntes Niederungsgrind)

Das Tier wurde 1950 geboren und hat am 5.1.1962 zum 8. Male gekalbt. Die Kuh gab täglich 25 kg Milch. Das Euter war sehr groß und hatte ein derbes Parenchym, in dem teilweise derbe Stränge fühlbar waren. Die Viertel waren regelmäßig ausgebildet und hatten kurze, dicke Striche. Die Kuh ließ sich sehr leicht melken. Beide suprammären Lymphknoten waren deutlich vergrößert. Die erste Probe wurde am 6. Laktationstag entnommen. Die Abbildung 12 veranschaulicht die teilweise außerordentlich hohen Zellgehalte. Der Leukozytengehalt war häufig höher als der Gehalt an Epithelzellen. Bei den Proben Nr. 7 und 10 war die Milch flockig. In der Probe Nr. 10 wurden mikroskopisch Mikrokokken festgestellt. Vor einigen Jahren hatte die Kuh eine Strichverletzung. Die Zellbefunde der Tabelle 9 sind in Abbildung 12 graphisch dargestellt.

Nachuntersuchung

Die Proben für die Nachuntersuchung sind am 5., 12., 18. und 27. Tag nach dem Kalben entnommen worden. Sie entsprachen somit zeitlich den Proben 1 bis 4 der Hauptuntersuchung. Der Zellgehalt war jedoch in den einander entsprechenden Proben sehr verschieden. Das traf sowohl für den Gesamtzellgehalt, als auch für die einzelnen Zellarten zu.

T A B E L L E 9

Kuh Nr. 8

"Qualle", geb. 15.2.1950, gekalbt 5.1.1962 (8. Kalb)

Milchleistung: 25 kg

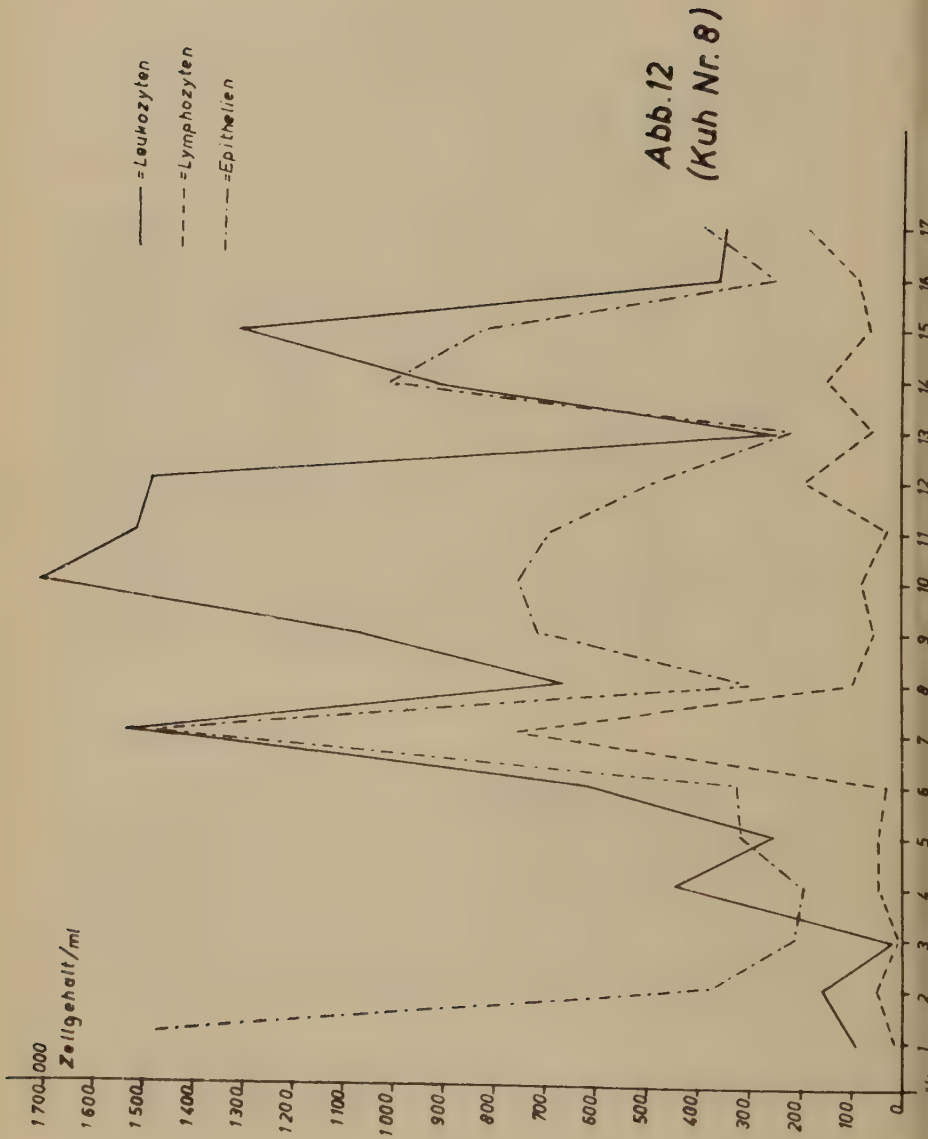
Rasse: Schwarzbuntes Niederungsgrind

Nr.	pH	Leukoz. x 1000 pro ml	%	Lymphoz. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	6,5	93,3	5,9	16,7	1,1	1473,3	93,0	1583,3
2	6,5	153,3	26,7	46,7	8,2	373,3	65,1	573,3
3	6,5	16,7	7,1	6,7	2,8	213,3	90,1	236,6
4	6,55	443,3	65,2	43,3	6,4	193,3	28,4	680,0
5	6,6	256,7	41,6	43,3	7,0	316,7	51,4	616,7
6	6,65	623,3	63,4	33,3	3,4	326,7	33,2	983,3
7	7,1	1560,0	40,5	753,3	19,5	1540,0	40,0	3853,3
8	6,8	660,0	62,3	100,0	9,4	300,0	28,3	1060,0
9	6,7	1080,0	58,3	60,0	3,2	713,3	38,5	1853,3
10	6,65	1710,0	67,2	80,0	3,2	753,3	29,6	2543,3
11	6,7	1520,0	67,7	33,3	1,5	693,3	30,8	2246,7
12	6,6	1493,3	68,5	193,3	8,9	493,3	22,6	2180,0
13	6,65	250,0	46,3	63,3	11,7	226,7	42,0	540,0
14	6,65	920,0	44,2	150,0	7,2	1013,3	48,6	2083,3
15	6,65	1320,0	59,4	66,7	3,0	836,7	37,6	2223,3
16	6,7	360,0	50,9	90,0	12,8	256,7	36,3	706,7
17	6,7	350,0	38,0	183,3	20,0	386,7	42,0	920,0

Nachuntersuchung in der nächsten Laktation

1	Ges.	6,6	310,0	31,0	13,3	1,3	676,7	67,7	1000,0
2	"	6,65	273,3	16,0	36,7	2,1	1320,0	81,9	1720,0
3	"	6,6	223,3	57,3	10,0	2,6	156,6	40,1	390,0
4	"	6,55	336,7	45,9	30,0	4,1	366,7	50,0	733,3

Die Strichgemelke von Probe 1 konnten nicht ausgewertet werden, da sich die Ausstriche abgelöst hatten.



b) Gesamtdurchschnittswerte

Für die einzelnen Kühe wurden folgende durchschnittlichen Zellzahlen/ml aus den entnommenen Proben errechnet. Hierbei sind die teilweise stark abweichenden Minima und Maxima mit berücksichtigt worden.

T A B E L L E 10

Nr.	Lakt. - per.	Leukozyt. x 1000 pro ml	%	Lymphozyt. x 1000 pro ml	%	Epith. x 1000 pro ml	%	Gesamt x 1000 pro ml
1	2.	80,0	23,2	35,7	10,3	329,9	66,5	345,5
2	1.	76,7	26,3	22,9	7,8	192,4	65,9	292,0
3	2.	90,3	27,2	21,1	6,3	222,6	66,5	335,0
4	3.	34,4	13,8	13,2	5,3	201,5	80,9	249,1
5	2.	77,3	31,3	22,1	8,9	147,9	59,8	247,3
6	1.	13,3	7,2	29,6	16,1	141,5	76,7	184,5
7	7.	49,8	27,1	14,9	8,1	119,2	64,8	183,9
8	8.	753,5	51,5	115,5	7,9	594,7	40,6	1463,7

Berücksichtigt man die Kuh Nr. 8 nicht, errechnet sich aus diesen Werten ein Gesamtdurchschnitt von:

60,3 23,0 22,8 8,7 179,3 68,3 262,5

c) Bakteriologische Untersuchung

Die bei allen Kühen stichprobenweise durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen zeigten nur in ganz geringen Mengen Mikrokokken und ganz vereinzelt Corynebakterien. Nur die Kuh Nr. 8 schied aus dem vorderen linken (ehemals verletzten) Viertel hin und wieder flockige Milch aus. In diesen Fällen waren Mikrokokken kulturell, aber auch bakterioskopisch nachzuweisen.

d) Der pH-Wert der Milch der einzelnen Kühe lag zwischen 6,55 und 6,8. Jede einzelne Kuh zeigte aber nur geringe Schwankungen von 0,05 - 0,1 pH. Nur bei der Kuh "Qualle" stieg zur Zeit des größten Zellgehaltes der pH-Wert auf 7,1 an. (Probe Nr. 7). Die Milch enthielt an diesem Tage Flocken, außerdem konnten Mikrokokken nachgewiesen werden.

e) Die Thybromol-Katalase-Probe

Die Thybromol-Katalase-Probe ergab sehr unterschiedliche Werte. Davon sollen hier einige als Beispiel angeführt werden:

Katalasezahl	Leukozyten
10	120 000, 16 000, 6 700
30	146 000, 80 000, 46 700, 26 700
35	213 300, 60 000
45	250 000, 133 300, 23 300

Wegen dieser doch recht erheblichen Abweichungen wurde von einer weiteren Anwendung dieser Methode abgesehen.

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

I. Vergleiche der Ergebnisse mit der Literatur

Im Gegensatz zu der bisher geltenden Auffassung sind Zlotnik (1947), Wahby und Nasr (1957) und auch Moursy und Obiger (1960) der Ansicht, daß Milch aus gesunden Eutern keine echten Leukozyten enthält. Nach ihrer Meinung kommen als weiße Blutzellenart nur die Lymphozyten in normaler Milch vor. Von Wahby und Nasr (1957) und Moursy und Obiger (1960) wird dementsprechend das Vorkommen von polymorphkernigen Leukozyten als Diagnostikum für eine Sekretionsstörung bei negativem bzw. für eine Mastitis bei positivem bakteriologischem Befund gewertet. Sie unterscheiden die "Pseudopolymorphkernigen" von den "echten" polymorphkernigen Leukozyten und differenzieren rein morphologisch nach Größe, Gestalt und dem Vorkommen von Vakuolen bzw. Fetttröpfchen im Protoplasma.

Auf Grund der bei den vorliegenden Untersuchungen gemachten Beobachtungen, läßt sich bei einer monochromatischen Färbung der Zellen nicht ausreichend unterscheiden, ob degenerierte Epithelien (Pseudopolymorphkernige) oder Leukozyten vorliegen. Auch die Giemsa-Färbung ermöglicht keine genaue morphologische Differenzierung. Aus diesem Grunde wurde für die vorliegenden Untersuchungen die aus der Hämatologie bekannte Peroxydase-Färbung angewandt. Sie erlaubt eine eindeutige Abgrenzung der Granulozyten auf Grund ihres Fermentgehaltes.

Mit dieser Färbung konnte festgestellt werden, daß alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kühe Leukozyten mit der Milch ausschieden.

Nur in 5 von 163 Proben (Probe 13 und 17 der Kuh Nr. 4, Probe 3, 8 und 10 der Kuh Nr. 6) lag der Leukozytengehalt unter der Nachweisgrenze (3333 Zellen/ml).

Bei genauester Prüfung ergab sich, daß jedoch nur die Milchprobe Nr. 3 der Kuh Nr. 6 keine Leukozyten enthielt, während in den anderen Proben je 1 bis 2 Leukozyten je Ausstrich nachgewiesen werden konnten.

Es sei in diesem Zusammenhang nochmals betont, daß die Euter der untersuchten Kühe (außer Kuh Nr. 8) klinisch und bakteriologisch gesund waren.

Neben echten segmentkernigen Leukozyten konnten auch pseudopolymorphkernige Zellen nachgewiesen werden.

Der Meinung Zlotniks (1947), daß es sich hierbei um degenerierte Epithelien handelt, kann nur zugestimmt werden, da in jeder Milchprobe verschiedene Zerfallsformen von Epithelien auftraten, die sehr große Ähnlichkeit mit segmentkernigen Leukozyten hatten. Aus diesem Grunde wurden sie bei der Differenzierung nicht besonders aufgeführt, sondern den Epithelien zugerechnet.

Die Feststellung Zlotniks (1947), Wahbys und Nasrs (1957) und Moursys und Obigers (1960), die Pseudopolymorphkernigen könnten bei monochromatischer Färbung häufig mit den "echten" segmentkernigen Granulozyten verwechselt werden, ist durchaus zu bestätigen. Andererseits muß die Ansicht, die Granulozyten enthielten keine Vakuolen, revidiert werden, denn bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurden in degenerierten "echten" Leukozyten Vakuolen mit Sicherheit festgestellt. Mit der Fermentfärbung ließen sich auch diese teilweise schon fast zerfallenen Zellen noch eindeutig differenzieren. Es soll hier nochmals darauf hingewiesen werden, daß die Milch sofort nach der Entnahme verarbeitet wurde. Durch längeres Stehen gehen die lebenden Zellen zugrunde. Vielleicht liegt hier eine Ursache für die teilweise recht unterschiedliche Beurteilung des Leukozytengehaltes in normaler Milch.

Was nun den Zellgehalt in quantitativer Hinsicht angeht, so sind die Durchschnittswerte in Tabelle 10 zusammengestellt. Sie liegen (außer bei Kuh Nr. 8) innerhalb der heute allgemein anerkannten Norm von 100 000 - 200 000 Zellen/ml für den Gesamtzellgehalt (Hauke 1961). Ein Zellgehalt von 200 000 bis 300 000/ml konnte nur in dem ohnehin zellreicheren Endgemelk festgestellt werden. Nach Russel und Hoffmann (1908) kann aber der Zellgehalt im Endgemelk das 2 - 3fache des Anfangsgemelkes betragen. Moursy und Obiger (1960) hingegen geben als normalen Wert für das Anfangsgemelk im Hauptstadium der Laktation schon 250 000 (maximal 300 000) Zellen/ml Milch an.

Vergleicht man die von verschiedenen Autoren (Bachmann 1932, Bourgeois 1927, Eckl 1937 und Wirth 1929) veröffentlichten Angaben über das Differentialzellbild mit den in vorliegender Arbeit gefundenen Werten, so ergeben sich teilweise Übereinstimmungen. Der Anteil der Epithelien wurde auch hier, in Übereinstimmung mit der Literatur, mit 60 - 80% des Gesamtzellgehaltes ermittelt. Der Leukozytenanteil aber liegt nach den zitierten Autoren zwischen 44 und 57%. Die in dieser Arbeit gefundenen Leukozytenwerte betragen hingegen nur 20 - 30%. Vermutlich ist diese Abweichung darauf zurückzuführen, daß in den früheren Arbeiten die "Pseudopolymorphkernigen" den echten Leukozyten zugerechnet wurden. Diese wurden aber in der vorliegenden Arbeit ebenso wie die "großen squamosen Zellen" und die "Mikropseudozellen" zu den Epithelien gezählt. Die gefundenen Lymphozytenwerte (durchschnittlich um 10%) liegen innerhalb der in der Literatur angegebenen Grenzen (bis 36%).

II. Veränderungen des Zellgehaltes während der Untersuchungen

Die Tabellen und graphischen Darstellungen lassen erkennen, daß das Verhalten der einzelnen Tiere bezüglich des Zellgehaltes in der Milch recht unterschiedlich ist. So zeigen nur zwei Kühe, nämlich Nr. 4 und Nr. 6 einen niedrigen und auch wenig schwankenden Leukozytengehalt. Bei der Kuh Nr. 4 sind auch die Lymphozytenzahlen relativ konstant, während sie bei der Kuh Nr. 6 einige Male recht starke Steigerungen erkennen lassen. Die größten Unterschiede zwischen den einzelnen Proben zeigen sich im Gehalt an Epithelzellen. Die Kuh Nr. 4 hat bis zur 8. Untersuchung einen hohen und dabei stark schwankenden Epithelzellgehalt, nach der 10. Probe werden die Schwankungen jedoch geringer. Bei der Kuh Nr. 6 schwanken die Epithelzellzahlen weniger. Diese beiden Tiere haben von allen untersuchten den niedrigsten Zellgehalt.

Bei allen untersuchten Tieren war zu bemerken, daß Epithelzell- und Leukozytengehalt während der Versuche sehr häufig gleichsinnig verliefen, wobei die Epithelien den größten Anteil der gefundenen Zellen darstellten.

Die Lymphozytenzahlen verhielten sich davon unabhängig; auch waren die Schwankungen erheblich geringer.

Die Kuh Nr. 1 zeigt ein von den anderen Tieren gänzlich abweichendes Verhalten. Bei ihr fällt die außerordentlich hohe und schwankende Epithelzellzahl auf. Die Probe 10 zeigt ein absolutes Maximum an Lymphozyten, ein Minimum an Leukozyten und einen sehr hohen Epithelzellgehalt. Bei den Proben 19 und 21 liegen die Leukozytenwerte über denen der Epithelien. Da der Epithelzellgehalt schon immer recht hoch war, liegt wegen der rapiden Zunahme der Leukozyten der Verdacht nahe, daß eine seit langer Zeit bestehende latente Sekretionsstörung innerhalb kürzester Frist in einem akut-entzündlichen Zustand manifest geworden ist.

Tabelle 9 und Abbildung 12 zeigen den Befund eines mit Staphylokokken infizierten Euters. Es fällt auf, daß der Leukozytengehalt meistens über dem Gehalt an Epithelien liegt. Nur zweimal finden sich Leukozytenwerte unter 100 000 und einmal zwischen 100 000 und 200 000. Alle anderen Werte liegen über 200 000. Auch die Lymphozytenzahlen erreichen erheblich höhere Werte als bei den anderen Tieren.

Bei Betrachtung der Tabelle 10 fällt auf, daß die einzelnen Tiere sehr unterschiedliche Durchschnittswerte für den Leukozytengehalt in der Milch aufweisen. Für die anderen Zellarten und für den Gesamtzellgehalt ist die Variationsbreite wesentlich geringer. Bei den Kühen Nr. 4, 6 und 7, die im Laufe der Untersuchungen die geringsten Schwankungen im Gesamtzellgehalt zeigten, waren auch die Leukozytendurchschnittswerte am niedrigsten. Der durchschnittliche Leukozytengehalt der übrigen Tiere lag, bei gleichzeitigen stärkeren Schwankungen im Gesamtzellgehalt, wesentlich höher.

Auch Wilde (1938) beobachtete bei starken Schwankungen im Gesamtzellgehalt einen relativ höheren Leukozytenanteil als bei geringen Schwankungen.

Durch welche Faktoren könnte nun der Zellgehalt beeinflußt worden sein?

Die Tiere gehörten zu einer Herde, die das ganze Jahr über im Stall gehalten wurde. Die Fütterung war für alle Tiere gleich. Die Betreuung erfolgte seit mehreren Jahren durch die gleichen Fachkräfte. Gemolken wurde mit der Maschine. Die äußeren Bedingungen waren somit für alle Tiere etwa gleich.

Auch innere Faktoren können den Milchzellgehalt beeinflussen. Unter ihnen soll auch das Alter, d.h. die Laktationsperiode, einen Einfluß haben. Hierzu berichten Waite und Blackburn (1957), daß sie nach der zweiten bis zur siebenten Laktation ein starkes Ansteigen des Gesamtzell- und Leukozytengehaltes beobachtet haben.

Diese Beobachtungen konnten nicht als allgemeingültig bestätigt werden. In vorliegender Arbeit ergaben sich zum Teil entgegengesetzte Resultate. So konnte bei Tieren, die sich in der ersten bis dritten Laktation befanden, ein höherer Zellgehalt, als bei solchen in der sechsten und siebenten Laktationsperiode festgestellt werden.

Weiternin könnte das Laktationsstadium der einzelnen Tiere auf den Zellgehalt einen Einfluß ausgeübt haben. Bei einer Kuh (Nr. 6) war auch eine abfallende Tendenz im Laufe der Untersuchungen erkennbar. Die anderen Tiere hingegen zeigten keine Abhängigkeit des Zellgehaltes von der fortschreitenden Laktation.

Schließlich besteht die Möglichkeit, daß der Zellgehalt von konstitutionsbedingten Faktoren abhängig ist.

Für diese Annahme spricht das übereinstimmende Verhalten der Kühe Nr. 1 und 3. Bei diesen Tieren handelte es sich um eineiige Zwillinge. Beide zeigten einen stark schwankenden Gesamtzellgehalt mit ungefähr gleichem durchschnittlichem Differentialzellbild. Die bei beiden Tieren gleichsinnig stark schwankenden Zellgehalte weisen auf eine besondere Reaktionsfähigkeit des Euterparenchyms gerade bei diesen Kühen hin. Dagegen wiesen die Tiere Nr. 4, 6 und 7 während der Untersuchungen nur geringe Schwankungen im Zellgehalt auf.

Es liegt also der Schluß nahe, daß sich für den Zellgehalt normaler Milch keine Norm mit definierter Schwankungsbreite festlegen läßt. Viel wichtiger ist auch, daß das Verhältnis Epithelien/Leukozyten bei jeder Kuh immer konstant zu sein scheint. Bei der Milch gesunder Kühe liegt es nach den in dieser Arbeit gemachten Erfahrungen immer unter 1. Auch nach den Befunden von Blackburn, Laing und Malcolm (1955) liegt der Leukozytenanteil normaler Milch bei einem Gesamtzellgehalt von 100 000 unter 45%.

Zur Bestätigung dieser Annahme sind jedoch noch weitere Untersuchungen an einem größeren Material nötig.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Von 7 gesunden Kühen mit klinisch gesunden Eutern aus dem Rassenstall des Institutes für Tierzüchtung der Technischen Universität Berlin wurden über 6 bzw. 4 Monate in Abständen von einer Woche Milchproben von Gesamt-Endgemelken entnommen und cytologisch untersucht. Die Milch einer Kuh mit chronischer Mikrokokkenmastitis wurde zum Vergleich in die Untersuchungen mit einbezogen. Die Darstellung der Leukozyten erfolgte mittels der Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll, die mit Giemsa-Lösung gegengefärbt wurde. Die Färbung erwies sich für die Untersuchungen als gut geeignet und ergab bei frischer Rohmilch auch dann noch gute Resultate, wenn die Leukozyten schon teilweise beschädigt waren. Die Färbung ermöglichte vor allem auch eine eindeutige Differenzierung der Granulozyten gegenüber den sog. "Pseudopolymorphkernigen".

Es wurde ein durchschnittlicher Gesamtzellgehalt von 184 000 bis 345 000/ml ermittelt. Davon entfielen im Durchschnitt

20-30% auf die Leukozyten, etwa
10% auf die Lymphozyten und
60-70% auf die Epithelien.

Von insgesamt 163 untersuchten Proben enthielten nur 5 weniger als 3333 Leukozyten/ml.

Aus den Versuchen muß gefolgert werden, daß auch in normaler Milch eine gewisse Anzahl von Leukozyten vorkommt. Die Anschauung, daß das Auftreten von Leukozyten in der Milch stets als ein Hinweis auf das Vorliegen von Sekretionsstörungen oder sogar von entzündlichen Vorgängen zu werten sei, konnte nicht bestätigt werden.

Bei den sich über 6 bzw. 4 Monate erstreckenden Untersuchungen jedes Tieres konnte, außer der bekannten Zellerhöhung am Anfang der Laktation, keine Abhängigkeit zwischen dem Zellgehalt und der Dauer der Melkperiode festgestellt werden.

- 8) Breed, R.S.
(1917)
Über die aus dem Euter stammenden Zellen in der Milch.
N.Y.Agr.Exp.Sta. Geneva, N.Y. Bull.
No. 380, 139
Z. Untersuch. Nahrungsmitt. 33, 411
- 9) Cherington, V.A.,
H.C. Hansen u.
W.V. Hucker
(1933)
The leucocyte content of milk as correlated with bacterial count and hydrogen ion concentration for the detection of mastitis.
J. Dairy Sci. 16, 59
- 10) Christiansen, C.
(1929)
Die Bedeutung der Leucocyten für die Diagnose und Prognose physiologisch normaler und pathologisch veränderter Milch.
Milchwirtsch. Forsch. 7, 233
- 11) Diernhofer, K.
(1950)
Diagnostik der Euterentzündungen
Wien. tierärztl. Mschr. 37, 809
- 12) Durchholz, R.
(1958)
Über den Wert der Bestimmung der Leukozytenzahl und des Zellbildes in der Milch für die Diagnose der Rinderleukose.
Vet.-med. Diss. Hannover
- 13) Du Toit, P.J.
(1917)
Beitrag zur Morphologie des normalen und des leukämischen Rinderblutes.
Arch. wiss. prakt. Tierhk. 43, 145

- 14) Eckel, K.
(1937) Das Milchzellbild des nordböhmischen Höhenfleckviehs und seine Bedeutung für die Qualitätsbeurteilung der Milch. Wiss.Berichte d. 11. Milchwirtsch. Weltkongresses Berlin Bd. 1, S. 275
- 15) Frerking, H.
(1961) Zur Feststellung von Euterstörungen und Euterentzündungen in Vorzugsmilchbetrieben unter Verwendung geeigneter Laboratoriumsverfahren. Vet.-med.Diss. Hannover
- 16) Halversen, W.V.,
V.A.Cherington
u. H.C.Hansen
(1934) Laboratory methods for the detection of milk from cows infected with mastitis. J.Dairy Sci. 17, 281
- 17) Hauke, H.
(1961) Zellgehalt der normalen und pathologisch veränderten Milch. Sammelreferat Dtsch.tierärztl.Wschr. 68, 660, 724
- 18) Hillmann, C.
(1956) Studien über Veränderungen in der Zusammensetzung und den Eigenschaften der Kuhmilch im Verlauf einer Laktationsperiode. Landw.Diss. Gießen
- 19) Imping, E.
(1937) Über die Veränderung des Zell- und Bakteriengehaltes der Marktmilch durch die meliereimäßige Bearbeitung, insbesondere durch die verschiedenen nach der dritten Ausführungsverordnung zum Milchgesetz zulässigen Erhitzungsverfahren. Vet.-med.Diss. Hannover

- 20) Keßler, E.M.,
L.I. Reid u.
C.B. Knodt
(1950) Selection of samples in determination
of streptococcal flora of the udder.
J.Dairy Sci. 33, 676
- 21) Kiessig, W.
(1932) Erfahrungen bei den Laboratoriumsunter-
suchungen bei der Kontrolle der Vor-
zugs- und Markenmilch.
Dtsch.tierärztl.Wschr. 40, 667
- 22) Klimmer, M. u.
F. Schönberg
(1951) Milchkunde u. Milchhygiene.
6. Aufl. Schaper, Hannover
- 23) Leidl, W.
O.W. Schalm u.
P. Lüps (1961) Die Zellzahlbestimmung nach Prescott
und Breed und ihre Fehlermöglichkeiten.
Milchwiss. 16, 557
- 24) Lerche, M.
H.-J. Nieder u.
E. Zinn (1937) Die Untersuchung roher und erhitzter
Milch auf "mikroskopisch nachweisbaren
Eiter".
Z.Fleisch-Milchhyg. 47, 25, 50
- 25) Mielke, H.
(1925) Untersuchungen über die oxydativen
Fermente der Leukozyten.
Klin.Wschr. 4, 2201
- 26) Moursy, A.W. u.
G. Obiger
(1960) Zelldifferenzierung als Hilfsmittel
für die Diagnose von Sekretionsstörun-
gen.
Milchwiss. 15, 500
- 27) Nieder, H.-J.
(1935) Untersuchungen über verschiedene Zell-
zählungsmethoden in der Milch.
Vet.-med.Diss. Berlin

- 28) Obiger, G.
(1961) Reichweite und Bedeutung der sogenannten Schnellmethoden sowie weiterer Laboratoriumsuntersuchungen zur Feststellung von Euterentzündungen. Kieler milchwirtsch. Forsch. ber. 13, 293
- 29) Prasuhn, F.
(1933) Studien über den Zellgehalt von Vorzugsmilch. Vet.-med. Diss. Hannover
- 30) Prescott, S.C. u.
R.S. Breed
(1910) Bestimmung der Leukozytenzahl in der Milch durch eine direkte Methode. J. Infect. Dis. 7, 632
Ref. Zbl. Bakt. II 27, 230
- 31) Romeis, B.
(1948) Mikroskopische Technik
15. Aufl. Leibnitz Verl. München 1948, S. 322, § 1378
- 32) Russel, H.L. u.
K. Hoffmann
(1908) Die Verbreitung von Zellelementen in der Milch und deren Beziehung zu gesundheitlichen Normalmaßen. Milchwirtsch. Zbl. 4, 409
- 33) Schönberg, F.
(1956) Milchkunde und Milchhygiene
7. Aufl. Schaper, Hannover
- 34) Schönherr, W.
(1956) Leitfaden der Milchuntersuchung
Hirzel, Leipzig
- 35) Schulz, P.
(1909) Mikroskopische Untersuchungen des Kolostrums der Kühe
Z. Fleisch-Milchhyg. 19, 52, 132

- 36) Seiff, Emmi
(1932) Über den Zellgehalt chemisch einwand-
freier und physiologisch veränderter
Milch.
Med.Diss. Hamburg
- 37) Siegert, K.
(1931) Zellanalytische Studien an der Milch
galtinfizierter Kühe.
Vet.-med.Diss. Leipzig
- 38) Skar, O.
(1912) Eine schnelle und genaue Methode zur
Zählung von Bakterien und Leukozyten
in der Milch.
Milchwirtsch.Zbl. 8, 454
- 39) Steck, W.
(1923) Weitere Untersuchungen über den Zu-
sammenhang zwischen Keim- und Körper-
zellgehalt aseptisch gewonnener Einzel-
viertelmilchen aus gesunden Kuheutern.
Zbl.Bakt.I Abt. Orig. 90, 61
- 40) Teute, H.W. u.
W. Welz (1951) Einfluß der Fütterung auf das Auf-
treten von Euterinfektionen und Sekrets-
störungen sowie auf die chemisch-
physikalische Beschaffenheit der Milch.
Kieler milchwirtsch.Forsch.ber.13,445
- 41) Wahby, A.M.
(1954) Reaction, chloride-content and cell
count and types of normal buffalo milk.
Zbl.Vet.med. 1, 775
- 42) Wahby, A.M. u.
S. Nasr (1957) A rapid laboratory method for diagnosis
of bovine mastitis.
Zbl.Vet.med. 4, 341
- 43) Waite, R. u.
P.S. Blackburn
(1957) The chemical composition and the
cell count of milk.
J.Dairy Sci. 24, 328

L E B E N S L A U F

Am 28. Dezember 1931 wurde ich, Friedrich August Joachim Neuschulz, als Sohn des Postsekretärs Friedrich Neuschulz und seiner Ehefrau Antonie, geborene Bierstedt, in Berlin-Köpenick geboren. Ich bin deutscher Staatsbürger. Von 1938 bis 1942 besuchte ich die 6. Grundschule in Köpenick und anschließend die Oberschule. Als 1943 die Schule evakuiert wurde, ging ich bis zum Februar 1945 in Fürstenwalde/Spree zur Oberschule. Vom Herbst 1945 bis zum Sommer 1948 war ich wieder Schüler der Oberschule in Berlin-Köpenick. Von 1948 bis 1951 besuchte ich die Oberschule in Salzwedel/Altm., wo ich am 6. Juni 1951 die Reifeprüfung ablegte. Am 25. Februar 1952 bestand ich in Salzwedel die landwirtschaftliche Gehilfenprüfung.

Im Studienjahr 1952/53 studierte ich an der Humboldt-Universität in Berlin Landwirtschaft. Zum Wintersemester 1953/54 wurde ich an der veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Am 23.10.1958 bestand ich die tierärztliche Vorprüfung und am 21.12.1961 das tierärztliche Staatsexamen. Mit Wirkung vom 6. Juli 1962 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt. Seitdem bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter des Institutes für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin.

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H.-J. Sinell, für die Überlassung des Themas und die allzeit gewährte freundliche Anregung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank sagen.

Herrn Prof. Dr. J. Kliesch, Direktor des Institutes für Tierzüchtung und Haustiergenetik der Technischen Universität Berlin, und Herrn Prof. Dr. U. Neuhaus sage ich für die Überlassung der Versuchstiere meinen ergebensten Dank.

Es sei mir auch gestattet, an dieser Stelle meinen Dank und meine Verehrung für Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. M. Lerche für die erfahrene fachliche Förderung und Beratung zum Ausdruck zu bringen.

